

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968

N°

T H È S E

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Jean SCIOLDO-ZÜRCHER

né le 14 Décembre 1939 à Clermont-Ferrand (63)

Présentée et soutenue publiquement au mois de Juin 1968

APERÇU SUR NOS CONNAISSANCES ACTUELLES

CONCERNANT LE BIOSYNTHESE DES PROTEINES ET

QUELQUES UNES DE LEURS APPLICATIONS PHYSIOPATHOLOGIQUES.

Président : M. DASTUGUE, Professeur

M. THOMAS, Professeur

Membres du Jury : M. MERCIER, Professeur

M. FOURRIER, Professeur Agrégé



UNIVERSITE
de
CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL,
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER Directeur Honoraire : M. MERLE.

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET, MM. BUREAU,
GAUTHIER, POMMÉ.

I - Professeurs Titulaires

MM. BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
BASTIDE	- Chimie biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	- Clinique obstétricale
BERGER	- Chimie analytique
BERGERON	- Pathologie médicale
COULET	- Botanique et microbiologie
CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	- Biochimie médicale
DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	- Anatomie Pathologique
FEBVRE	- Pharmacie Galénique
GRAS	- Clinique Médicale
JACQUEMET	- Technique chirurgicale
JALLUT	- Séméiologie médicale
LATAIX	- Pathologie chirurgicale
MERCIER	- Anatomie
MEYNIEL	- Biophysique médicale
MOLINA	- Clinique Pneumo-phtisiologique
PETIT	- Médecine légale et Médecine sociale
POROT	- Clinique neurologique et psychiatrique
POURRAT	- Matière médicale
Mele RAMPON	- Thérapeutique
MM. ROUHER	- Clinique ophtalmologique
TERRASSE	- Clinique médicale B
THIEBLOT	- Physiologie
THOMAS	- Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
TRONCHE	- Pharmacie chimique
TURCHINI	- Histologie et Embryologie
VAURS	- Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN-CLOG	- Clinique Médicale infantile

II - Professeur Titulaire à titre personnel.

M. CHAMPEIX	- Médecine Légale et Médecine du Travail
M. VIALLET	- Electro-Radiologie.

III - Professeurs sans Chaire.

MM. ALFIERI	- Biophysique Médicale
CLUZEL	- Bactériologie
DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
GERMAIN	- Clinique Chirurgicale B
MENUT	- Pédiatrie et Puériculture.

IV - Maîtres de Conférences Agrégés.

M. BOSSY	- Anatomie
Mlle CHATONIER	- Chimie minérale et Minéralogie
Mme GAILLARD	- Physique Pharmaceutique
Mme MOINADE	- Médecine générale et Thérapeutique
M. PIGNIDE	- Médecine générale
Mme POURRAT	- Botanique
M. VENRIES de LAGUILLAUMIE	- Anatomie Pathologique

V - Agrégés

MM. FOURRIER	- Orhtopédie
HOUDARD	- Chirurgie Générale
JANNY	- Neuro-chirurgie
RENARD	- Pneumo-phthisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie

VI - Délégués dans les fonctions de Maitres de Conférences.

MM. JARREAU	- Matière médicale
MALET	- Histologie et embryologie
MARCHEIX	- Médecine générale et Thérapeutique
PLAGNE	- Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

— 2 — — 2 — 2 — 2 — 2 — 2 — 2 — 2 — 2 — 2 — 2 — 2 — 2 — 2 —

Je dédie ce travail :

A la mémoire de mon Père,
Le Lieutenant Jean SCIOLDO-ZÜRCHER,
Docteur en Droit,
Mort pour la France dans les combats de WARNDT
le 21 Septembre 1939, à l'âge de 29 ans.

A ma mère,

A mon frère,

mon meilleur soutien.

A tous mes Amis Internes

dont j'ai apprécié la confraternelle
camaraderie.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DASTUGUE

Professeur de Biochimie Médicale
Docteur en Médecine et en Pharmacie
Docteur ès-Sciences
Biologiste des Hôpitaux
Lauréat de l'Académie de Médecine et
de l'Académie des Sciences
Chevalier de la Légion d'Honneur
Commandeur de la Santé Publique
Officier des Palmes Académiques

qui non seulement a inspiré le sujet de cette thèse et en a dirigé la rédaction mais dont nous n'oublierons jamais, outre ses leçons magistrales, l'amical intérêt qu'il a bien voulu nous témoigner aux différentes étapes de nos études ; en témoignage de notre sincère et filial attachement.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur THOMAS

Professeur de Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
Oto-Rhino-Laryngologiste des Hôpitaux

Monsieur le Professeur MERCIER

Professeur d'Anatomie

Monsieur le Professeur Agrégé FOURRIER

Agrégé d'Orthopédie
Chirurgien des Hôpitaux.

Hommages respectueux et reconnaissants.

INTRODUCTION

La possibilité que possède toute cellule vivante d'effectuer la synthèse des protéines qui lui sont propres est admise depuis longtemps, que cette synthèse doive s'effectuer aux dépens de formes déjà relativement complexes d'azote que représentent les produits de l'hydrolyse digestive chez les animaux supérieurs, ou aux dépens des formes beaucoup plus simples telles que urée ou nitrates, chez les végétaux voire même azote libre, azote atmosphérique pour certaines légumineuses.

Mais le mécanisme de cette biosynthèse était resté mystérieux jusqu'à ces dernières années. Et cela aura été le mérite pour trois chercheurs français aujourd'hui bien connus, André LWOFF, François JACOB et Jacques MONOD, prix Nobel 1965, de prendre appui sur les multiples expériences antérieures pour imaginer de toutes pièces leur conception de l'ARN messager et donner à cet ensemble de phénomènes, réserve faite des innombrables particularités de fonctionnement déjà acquises ou à découvrir, une physionomie d'ensemble que l'on peut considérer d'emblée comme définitive.

Il ne saurait être question ici, cela va sans dire, de procéder à une synthèse rédactionnelle de toutes les communications publiées à ce jour sur cette biosynthèse protéinique. Un

volume entier n'y suffirait pas. Notre propos est beaucoup plus simple et se situe sur un plan différent.

A la requête de notre Maître, Monsieur le Professeur DASTUGUE, nous nous sommes efforcé de présenter un tableau simplifié à l'extrême de cette biosynthèse, celui que l'on pourrait souhaiter semble-t-il d'être retenu par le médecin praticien et de placer en regard sous forme d'exemples, quelques unes des applications immédiates qui en découlent ou la conception renouvelée qui s'en dégage relativement à des phénomènes biologiques ou physiopathologiques déjà connus.

Ce mémoire sera donc divisé en deux parties, l'une et l'autre d'ordre bibliographique .

Dans la première, intitulée : Aperçu sur nos connaissances actuelles concernant la biosynthèse des protéines, nous envisagerons successivement : Les préliminaires d'ordre biologique (chapitre I) . Les préliminaires d'ordre biochimique (chapitre II) . Le schéma général de la biosynthèse protéinique (chapitre III) . Les différentes sortes d'ARN (chapitre IV) . Le code génétique (chapitre V) . La régulation des activités enzymatiques (chapitre VI) .

Dans la deuxième, intitulée : Aperçu sur quelques applications physiopathologiques, nous aborderons, uniquement à titre d'exemple :

- Dans le chapitre I, les phénomènes de mutation, délétion et crossing over sous l'angle de l'interprétation chimique de quelques hémoglobinopathies.
- Dans le chapitre II, le transfert des informations acquises sous l'angle chimique de la mémoire.
- Dans le chapitre III, quelques éléments de thérapeutique médicamenteuse et hormonale sous l'angle de l'interprétation chimique de quelques médications.

Nous ne saurions terminer cette introduction sans rendre hommage à notre Maître le Professeur DASTUGUE, que nous ne remercierons jamais assez, non seulement pour nous avoir inspiré le sujet de cette thèse, mais en avoir dirigé l'exécution et nous avoir fourni les documents indispensables.

Nos remerciements vont également à Messieurs les Professeurs THOMAS, MERCIER et FOURRIER, qui ont bien voulu accepter de faire partie de notre Jury de Thèse, et à tous nos Maîtres de la Faculté de Médecine de Clermont-Ferrand et aux Chefs de Service de l'Hôpital d'Aurillac, Messieurs les Docteurs : N. ROCHLIN Chirurgien de l'Hôpital, J. PETITIMBERT Chirurgien-assistant, N'GUYEN PHUC Bunga Anesthésiste, dont nous avons été l'interne, pour l'enseignement des plus précieux que nous leur devons.

PREMIERE PARTIE

APERCU SUR NOS CONNAISSANCES ACTUELLES
CONCERNANT LA BIOSYNTHESE DES PROTEINES

C H A P I T R E I

PRELIMINAIRES D'ORDRE BIOLOGIQUE.

C'est à Friedrich MIESCHER que revient le mérite de la première approche du problème. En 1869 il isola un composé, qu'il nomma la nucléine, à partir de cellules de pus qu'il avait soumises à une digestion par l'acide chlorhydrique pour en isoler les noyaux. En traitant ces derniers par le carbonate de sodium il constata que la solution obtenue précipitait avec l'acide acétique ; le précipité présentait les réactions colorées des protéines et contenait du phosphore ; cette protéine phosphorée avait de plus la remarquable propriété d'être acide et de ce fait soluble dans les solutions alcalines, et insoluble dans les acides dilués. En 1874 MIESCHER partit s'installer à Bâle et disposa d'un matériel nucléaire de premier choix qui lui fut fourni par la laitance des saumons qui remontaient le Rhin. Il s'aperçut alors que les spermatozoïdes étaient presque uniquement constitués de substance nucléaire lorsqu'il en éliminait la queue en la faisant dissoudre dans l'acide acétique. MIESCHER montra encore que la substance essentielle que contenait la tête de ces spermatozoïdes était constituée d'un acide organique riche en phosphore et d'une base organique riche en azote. Ensuite, Richard ALT-MANN (1889), un histologiste, devait donner à l'acide ainsi découvert le nom d'acide nucléique ; il en opéra la synthèse en 1899.

A son tour KOSSEL étudia les acides nucléiques et réussit à en montrer la dualité ; d'après lui il existait un acide désoxyribonucléique, celui des laitances de poisson et un acide ribonucléique, celui du germe de blé et des levures. Le premier fut longtemps considéré comme caractéristique de la cellule animale, le second de la cellule végétale. En fait nous devons retenir que l'ensemble de ce matériel est commun à toutes les cellules.

Par ailleurs des travaux modernes ont montré que les cellules vivantes, du point de vue métabolique, peuvent être comparées à une usine automatique avec son centre directeur, ses chaînes de montage, ses moyens de liaisons ; cette " cellule usine " a pour rôle principal de fabriquer les protéines qui, vues sous l'angle de leur structure primaire, possèdent une constitution linéaire caractérisée par l'enchaînement rigoureux, suivant

un ordre précis, d'unités de petite dimension représentées par les acides aminés ou monoptides.

En résumé, nous nous bornerons pour le moment à dire que pour résoudre les deux problèmes posés, par le mécanisme de la biosynthèse protéinique et par sa régulation, la cellule fait appel à son patrimoine héréditaire matérialisé par les acides nucléiques.

En 1935, BRACHET et CASPERSSON, un belge et un suédois, indépendamment l'un de l'autre, soulignèrent l'existence d'un lien étroit entre les acides nucléiques et la biosynthèse des protéines ; leurs expériences firent appel notamment à la réaction de FEULGEN (1924) d'après laquelle le D.N.A. (ou acide désoxyribonucléique) donne un composé violet intense avec la fuschine préalablement décolorée par l'acide sulfureux, cette réaction étant absente avec le R.N.A. (ou acide ribonucléique). De plus CASPERSSON mit au point une technique basée sur les observations des bandes d'absorption que produisent les variétés D.N.A et R.N.A. dans la lumière ultra violette à 2650 angstromm. En mesurant ces bandes d'absorption dans les différentes parties de la cellule, il arriva à obtenir une estimation et une localisation semi-quantitatives des acides nucléiques intra-cellulaires. De plus il convient de signaler qu'à la même époque on avait réussi à obtenir des nucléases suffisamment purifiées, susceptibles d'hydrolyser spécifiquement les deux types d'acides nucléiques. En colorant les coupes d'organe par le bleu de toluidine ou la méthylpyronine, a pu être également étudiée la répartition des acides nucléiques dans la cellule même. Ainsi par ces trois méthodes ces auteurs ont réussi à démontrer que :

- Le D.N.A. est essentiellement présent dans les noyaux cellulaires,
- le R.N.A. quant à lui était localisé dans le nucléole et le cytoplasme.

Le D.N.A. et le R.N.A. sont formés de longues séquences nucléotidiques chaque nucléotide étant uni au suivant grâce à une fonction ester.

Les nucléotides du D.N.A. sont formés :

- d'un pentose : le désoxyribose
- de deux bases puriques : l'adénine et la guanine
- de deux bases pyrimidiques : la thymine et la cytidine.

Les nucléotides du R.N.A. comportent :

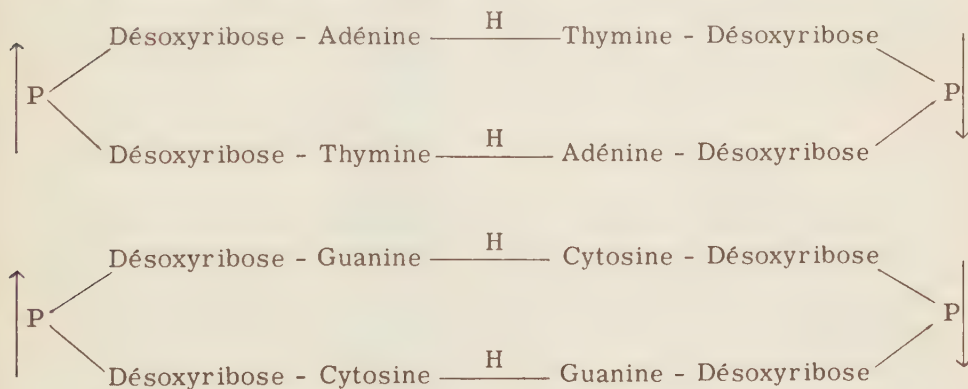
- un pentose : le ribose
- deux bases puriques : l'adénine et la guanine
- une des bases pyrimidiques diffère, la thymine est remplacée par l'uracile, la cytidine ne changeant pas.

WATSON et CRICK (1953) ces deux chercheurs de l'université de Cambridge, proposèrent un modèle révolutionnaire en s'appuyant sur les travaux de WILKINS (1953). Par des mesures de diffraction aux rayons X ils montrèrent que la molécule de D.N.A. est constituée non pas d'une chaîne, mais de deux chaînes parallèles constituées chacune d'une succession d'acide phosphorique et de désoxyribose avec des ramifications fournies par les bases.

Les bases, fait important, de chacune des deux chaînes sont au même niveau tournées l'une vers l'autre suivant une alternance précise :

- en face d'un reste adénine il y a toujours un reste thymine,
- en face d'un reste guanine il y a toujours un reste cytosine, etc...

et les deux bases qui se font face sont unies entre elles par des ponts hydrogène ce qui maintient les deux chaînes unies et forme ainsi une seule molécule, suivant le schéma suivant :



Cette molécule formée de deux chaînes séparées, hélicoïdales, parallèles, enroulées en sens inverse, est dite en "opposite polarity". La double hélice examinée au microscope électronique, montre quelques constantes caractéristiques :

- le pas d'hélice est de $34 \text{ \AA}$, ce qui correspond à 10 bases
- le diamètre est de $20 \text{ \AA}$
- sa longueur elle, peut atteindre plusieurs millions $\text{\AA}$.

D'autre part, du point de vue poids moléculaire le D.N.A. diffère sensiblement du R.N.A. :

- le D.N.A. a un P.M. de 5 à 15 millions (et parfois beaucoup plus)
- le R.N.A. lui a son P.M. qui peut varier de 25.000 à 5 millions suivant la variété considérée.

Par ailleurs, qu'il s'agisse de multiplications cellulaires intenses au niveau d'oocytes, d'érythroblastes, de bactéries, de tissus à croissance rapide ou sécréteurs de liquides biologiques riches en protéines (glandes salivaires, muqueuse intestinale, acini pancréatiques) on a toujours une teneur élevée en R.N.A. et si l'on effectue l'hydrolyse de ce dernier par la ribonucléase on provoque un arrêt de la synthèse protéinique.

Si l'on considère le D.N.A. et son rôle dans la biosynthèse protéinique, il faut constater que l'incorporation d'acides aminés dans le noyau cellulaire exige non seulement la présence, mais aussi l'intégrité de ce D.N.A. car l'action de la désoxyribonucléase supprime toute incorporation.

Deux célèbres expériences vont étayer cette théorie :

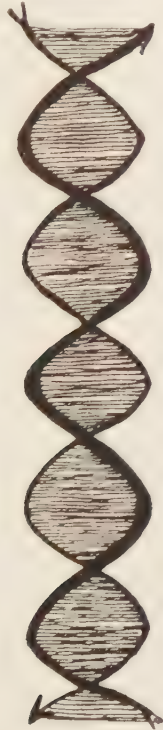
- Tout d'abord : AVERY - Mac LEOD et Mac CARTY montrèrent en 1944 que le D.N.A. purifié et cristallisé, extrait d'une souche de pneumocoques streptomycino-résistants suffit à lui seul à transformer une souche streptomycinosensible en souche streptomycino-résistante, et dès cette époque, on commença à soupçonner le D.N.A. d'être le substratum chimique des gènes.

Ensuite HERSHEY et CHASE (1952) réussirent à montrer que des virus de bactéries tels les bactériophages qui sont uniquement constitués de D.N.A. et de protéines spécifiques sont reproduits par l'appareil bactérien qui s'autolyse lui-même après pénétration du seul D.N.A. viral.

Il apparaît donc certain que le D.N.A. porte l'information qui détermine la structure spécifique des protéines virales et leur synthèse cellulaire.

En d'autres termes nous pourrions reprendre pour terminer ce premier exposé l'expression imagée adoptée à l'heure actuelle par la plupart des auteurs qui considèrent :

- le D.N.A. comme l'architecte
- le R.N.A. comme l'entrepreneur au cours de l'édification complexe des molécules protéiniques.



molécule de
D.N.A.

C H A P I T R E I I

PRELIMINAIRES D'ORDRE BIOCHIMIQUE

L'ensemble des observations que nous venons d'exposer aura mis en évidence deux faits essentiels :

La synthèse des protéines est sous la dépendance du R.N.A. tandis que la spécificité et l'orientation spatiale sont sous la dépendance du D.N.A. En considérant cette dualité nous arrivons à l'énoncé des deux principaux problèmes qui vont occuper la majeure partie de ce travail.

- I - En quoi consiste le mécanisme biochimique de la transmission de l'information génétique.
- II - Quel est le mécanisme de l'intervention du R.N.A. dans la synthèse protéinique ?

Ces deux points de vue ont grandement progressé grâce à une série d'études, remarquables par les moyens techniques mis en œuvre et la cohérence des résultats obtenus.

Après les travaux d'EVERETT - Mac LEO et HOTCHKISS (1944) on avait vu que le D.N.A. est caractéristique de trois ordres de faits :

- 1) Il possède la totalité de l'information génétique.
- 2) Il reste inchangé au cours des divisions cellulaires
- 3) Il subit une duplication tandis que sa concentration reste constante au cours des divisions cellulaires successives.

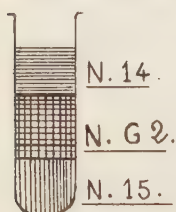
WATSON et CRICK (1953) après avoir proposé leur modèle structural ont émis l'hypothèse suivante : " Au cours des divisions cellulaires successives, les deux chaînes du D.N.A. se séparent et chacune va dans une cellule fille où chacune va servir de moule pour la synthèse de la chaîne complémentaire ".

Par conséquent, chacune des cellules filles possède des molécules de D.N.A. identiques à celles de la cellule mère.

Ces hypothèses ont été confirmées grâce à l'emploi de précurseurs marqués et de systèmes enzymatiques spécifiques.

MELSELSON et STAHL (1958) centrifugent à très haute vitesse (100.000 g.) pendant 2 à 3 jours une solution de ClCs, le chlorure de Césium est un sel de poids moléculaire élevé ; lorsque les molécules tendent à sédimenter aux hautes vitesses on a formation d'un gradient de concentration entre le haut et le bas du tube à centrifuger et les molécules, suivant la progression du gradient, sédimenteront densité à densité.

Ces auteurs réalisent donc l'expérience suivante : ils font croître un microorganisme du type *escherichia coli* sur un milieu à azote lourd N 15 ; ce microorganisme synthétise alors du D.N.A. (N 15). Ensuite, ensemencant *escherichia coli* sur un milieu normal à N 14, ils laissent une division cellulaire se produire et voient alors apparaître trois types de D.N.A. :

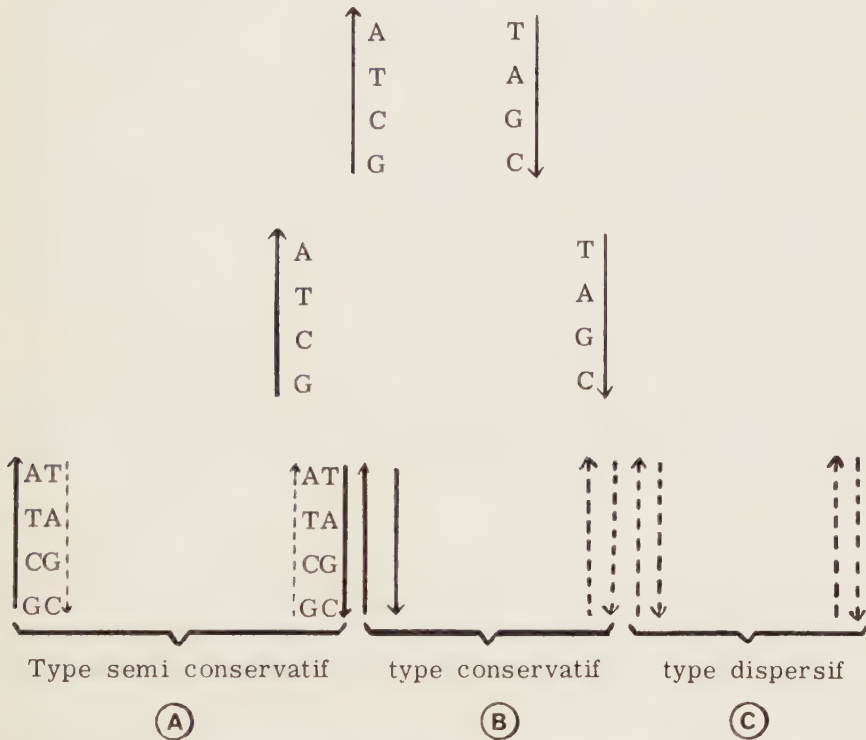


- Un D.N.A. - (N 14)
- Un D.N.A. (N 15)
- Un D.N.A. de deuxième génération
D.N.A. G2.

En soumettant ces trois formations au gradient de chlorure de césium, ils remarquent que le D.N.A. (N 15) descend plus bas que le D.N.A. (N 14) ; ils constatent surtout que le D.N.A. de deuxième génération a un comportement intermédiaire entre le D.N.A. (N 14) et le D.N.A. (N 15). Par conséquent, on peut conclure de cette expérience que cette synthèse chaîne marquée - chaîne non marquée donnant une molécule de D.N.A. mixte, est exactement ce que laissait prévoir l'hypothèse de WATSON et CRICK (1953).

Ce mode de reproduction qui reconstitue à partir d'une des chaînes du D.N.A. de la cellule mère, la molécule entière dans la cellule fille a été appelée répllication semi-conservative où nous avons conservation des atomes originaux et de leurs liaisons covalentes. Cependant d'autres mécanismes peuvent être imaginés :

- Ou les molécules nouvelles sont entièrement réformées, on a alors un schéma conservatif,
- Ou bien la réplication peut impliquer la rupture des liaisons avec une redistribution des atomes entre les séquences des molécules nouvelles, nous avons alors un schéma dispersif.



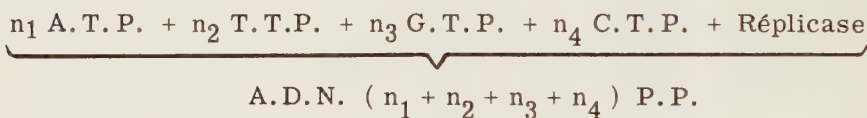
Exploitant les résultats fournis par les expériences précédentes les auteurs ont essayé de démontrer l'existence d'une enzyme permettant la reconstitution de la double hélice, ce fut le mérite de KORNBERG et de ses élèves (1958) d'isoler à partir du même *escherichia coli* une enzyme l'A.D.N. polymérase qu'il nomma ensuite la Réplicase.

Cette enzyme incubée avec des désoxyribonucléotides, en présence d'A.T.P. et d'ions Mg^{++} est capable de synthétiser in vitro le D.N.A. Toutefois il est indispensable que le

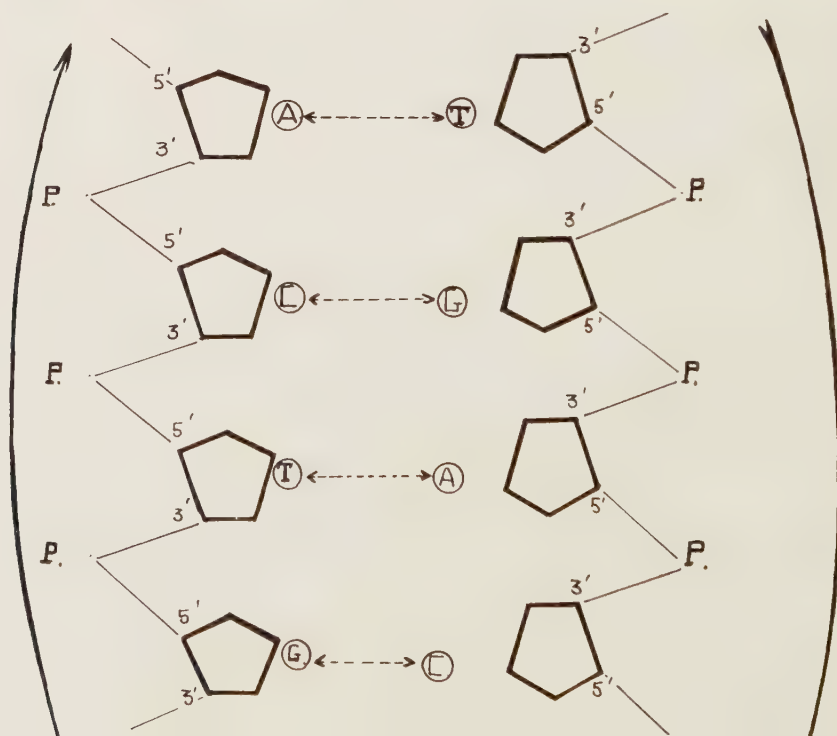
milieu comporte une légère quantité de D.N.A. préformé, d'origine quelconque et les nucléotides correspondant aux quatre bases Adénine, Guanine, Cytosine et Thymine car l'absence de l'une des quatre réduit la synthèse à zéro.

KORNBERG et ses élèves (1958-1961) ont d'autre part établi par l'emploi des nucléotides marqués au phosphore radioactif que la séquence des bases du D.N.A. néoformé était complémentaire de la structure du D.N.A. ajouté au milieu avant l'incubation quelle que soit d'ailleurs son origine (Bactériophages, bactéries, thymus de boeuf).

La Réplicase est donc vraisemblablement l'enzyme qui intervient dans la réplication du D.N.A. au cours des divisions cellulaires ; schématiquement nous pouvons écrire l'équation :



et nous pouvons maintenant représenter la réplication enzymatique d'après KORNBERG.



L'analyse enzymatique par la D.N. ase et la phosphodiesterase confirme que les bases sont bien réunies par des liaisons phosphodiesters 3' 5' du désoxyribose. La Réplicase attache les nucléotides sur l'extrémité 3' O.H. du D.N.A. en formant une liaison covalente, la chaîne croissant dans le sens 3' 5'.

Les mêmes auteurs ont constaté ensuite que dans certaines conditions en l'absence de D.N.A. modèle, la Réplicase peut susciter deux formations :

- soit un homopolymère où l'on aura des D.N.A. élémentaires ne renfermant que la guanine ou la cytosine, par exemple.

G G G G
C C C C

- soit un copolymère où l'on aura des D.N.A. renfermant l'adénine et la thymine alternées :

A T A T A T A T

Or il se trouve que les homo et copolymères, incubés avec les nucléosides triphosphates des quatre bases et en présence de Réplicase dirigent la synthèse d'homo et de copolymères complémentaires

C C C C —————→ G G G G
A T A T —————→ T A T A

ce qui démontre directement la complémentarité des bases de la chaîne qui est copiée et de la chaîne qui copie, en même temps que l'efficacité du mécanisme de reconnaissance entre bases complémentaires.

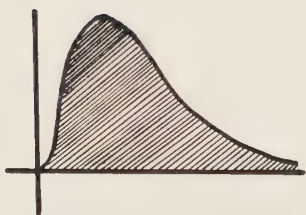
D.N.A. et HYBRIDES -

S'inspirant des travaux de KORNBERG (1961), DOTY (1962) a essayé de créer des hybrides par duplication hétérotypique ; ainsi :

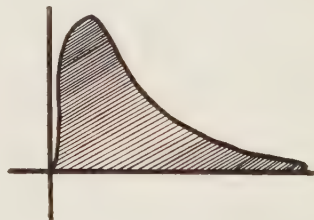
- a) si l'on chauffe avec ménagement une solution de D.N.A. celui-ci perd sa structure secondaire rigide et à une certaine température, dite de fusion, les liaisons hydrogène

se rompent et on a séparation des deux chaînes. Si l'on refroidit lentement on a reconstitution de l'A.D.N. initial.

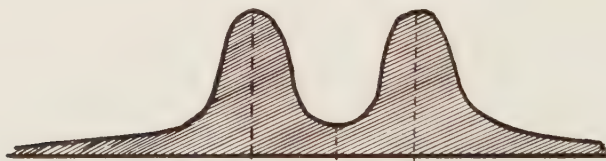
- b) si l'on mélange 2 D.N.A. différents, que l'on chauffe et que l'on refroidisse lentement, les deux D.N.A. initiaux se reconstituent sans aucune formation d'hybrides.
- c) mais si l'on mélange et que l'on refroidisse 2 D.N.A. identiques l'un marqué par du N 15 lourd et l'autre par N 14, au moment de la défervescence on a un hybride formé d'une chaîne N 15 et d'une chaîne complémentaire N 14. De ce fait, on va conclure que seules les chaînes complémentaires de D.N.A. sont capables de s'unir entre elles. En considérant les densités nous aurons le schéma suivant :



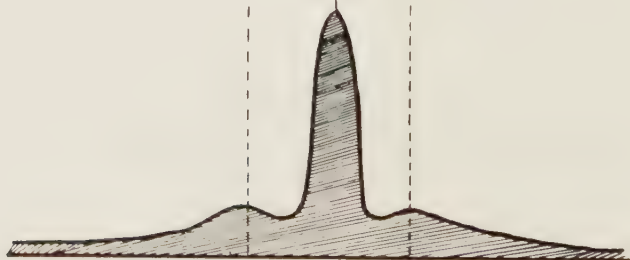
1°) - D.N.A. normal



D.N.A. lourd



2°) - D.N.A. chauffé, dénaturé et renaturé séparément par une exonucléase.



3°) - D.N.A. chauffé, et renaturé ensemble; on a hybridisation.

En conclusion de ce chapitre, nous dirons que le D.N.A. renferme l'information génétique. Mais comment cette information va-t-elle être communiquée au système qui synthétise les protéines elles-mêmes, c'est ce qui fera l'objet des pages ultérieures, compte tenu de l'aphorisme révolutionnaire (à l'époque) énoncé par BEADLE et TATUM (1941) " à un gène correspond un enzyme " et que nous pouvons exprimer plus précisément aujourd'hui en affirmant qu'à chaque séquence désoxyribonucléique au niveau du gène correspondra une chaîne polypeptidique déterminée.

C H A P I T R E I I I

SCHEMA GENERAL DE LA BIOSYNTHESE
PROTEINIQUE

En nous basant sur un schéma général, la biosynthèse des protéines peut être étudiée à bien des niveaux.

In vivo - avec des éléments marqués. Ainsi, SCHOEINHEIMER et ses élèves (1942) complétant les théories de BOROOK et KEIGHLEY (1935) ont démontré l'existence d'échanges permanents entre les acides aminés des protéines et les acides aminés marqués des tissus car en administrant un acide aminé marqué à un animal on a constaté que la radioactivité de ses protéines augmente rapidement ; mais il faut dire qu'ici on met seulement en évidence l'existence du phénomène fondamental ; pour en disséquer le mécanisme il faut des systèmes biologiques plus simples.

On a fait appel alors à des tissus ou à des cellules dont les plus employés ont été les cellules bactériennes et les réticulocytes. On démontre alors que la cellule incorpore in vitro des acides aminés marqués dans ses protéines et que cette incorporation correspond parfaitement à la synthèse de protéines définies, ainsi de nombreux auteurs comme KRUH et BOROOK (1956), PETERS et ANFENSEN (1950), LOTTFIELD (1954) (avec le matériel de choix que constitue l'hémoglobine).

De plus une étape importante sera franchie avec l'utilisation des systèmes acellulaires in vitro, le problème était en effet de découvrir dans quelle partie de la cellule s'effectue l'incorporation des acides aminés et quel était le système le plus simple autorisant une telle incorporation. Le mérite de ces travaux revient à deux auteurs ZAMECNIK (1953) et HOAGLAND (1955). Par centrifugation à très hautes vitesses, 100.000 à 400.000 G. ils ont séparé les noyaux, les mitochondries, les microsomes et une fraction soluble appelée le surnageant, qui, elle, ne sédimente pas. Ils ont constaté ensuite que si l'on mélange des cellules avec un acide aminé marqué avant la centrifugation, les microsomes sont marqués les premiers et avec le plus d'intensité, tandis que si l'on fait incubé des microsomes isolés on n'a pas d'incorporation, il est nécessaire d'ajouter au milieu la fraction soluble de l'ultracentrifugation et un générateur d'énergie qui

est le plus souvent de l'A.T.P. Cette fraction soluble correspond à la partie du surnageant total, qui a précipité à pH 5 et qui se redissout à neutralité : On lui a donné le nom d' " enzyme pH 5", formé en réalité de plusieurs enzymes et de différents acides nucléiques.

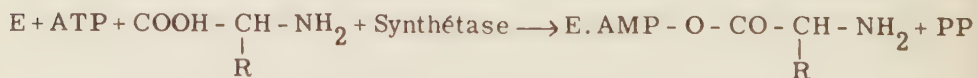
Nous sommes donc maintenant en présence du système d'incubation composé de microsomes (ou de granules de ribonucléoprotéines extraites des microsomes par le dodécylsulfate de Na et nommés ribosomes).

- de l' "enzyme pH 5 "
- du générateur d'énergie (on prend l'A.T.P. avec un système qui le régénère phosphate et créatine phosphokinase par exemple)
- de guanoside triphosphate ou G.T.P.
- d'ions minéraux : magnésium et potassium
- enfin, d'un acide aminé marqué et d'un mélange d'acides aminés non marqués.

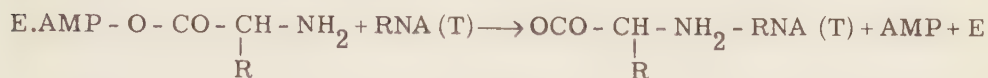
Si nous maintenons ce système complexe d'incubation à 37° pendant une heure nous obtenons alors des protéines radioactives. Il faut ajouter que les résultats fournis par ces synthèses d'incubation ont tous bénéficié de l'emploi d'inhibiteurs de la synthèse protéique comme le chloramphénicol, la streptomycine et la puromycine comme nous le verrons par la suite. A la lumière de ces travaux et en anticipant quelque peu sur des données à venir nous pouvons conclure à l'existence de cinq stades dans la biosynthèse des acides aminés.

Nous avons :

Stade I - Activation de l'acide aminé - Au moyen d'un générateur d'énergie qui est l'A.T.P. donnant ici un pyrophosphate, la liaison anhydride qu'a formé l'A.M.P. est riche en énergie et sert aux synthèses suivantes ; de plus des enzymes activateurs tels la synthétase ont été retrouvés dans tous les tissus testés, nous écrivons alors :



Stade II- Fixation sur le R.N.A. de transfert - Cette réaction est couplée avec la précédente bien que possédant une spécificité absolue notre équation devient :



Il importe avant d'aller plus loin, d'ouvrir une parenthèse sur la personnalité de ce R.N.A. (T). Cet acide est présent dans l'enzyme pH 5 ; on l'appelle R.N.A. soluble (S) ou de transfert (T).

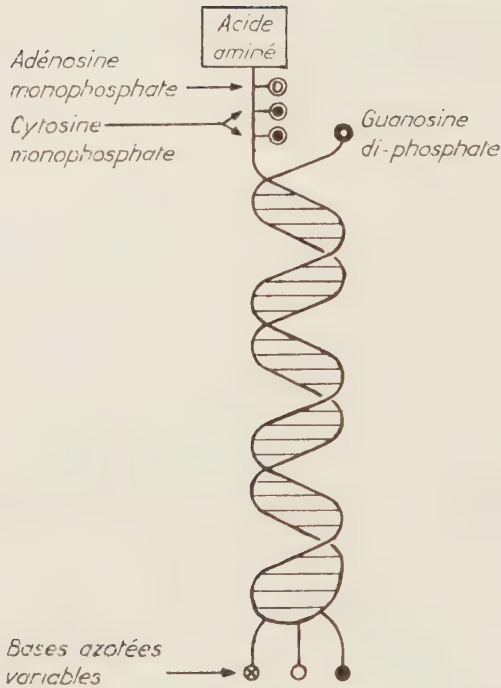
Le R.N.A. (T) est différent du R.N.A. ribosomal autant par son poids moléculaire qui est plus faible, environ 20 000 et comportant à peu près 70 nucléotides, que par sa composition car si sa chaîne polynucléotidique semble toujours commencer par un acide guanilique, elle semble également de façon constante s'achever par une triple séquence.

- Cytidylique
- Cytidylique
- Adénylique

Cette séquence est non seulement nécessaire à la réaction mais apparaît plus mobile que le reste de la molécule.

WILKINS M. H. (1953) et en (1956) étudie ce R.N.A. (T) par diffraction aux rayons X et prouve que le R.N.A. (T) possédait une structure qui rappelle celle du D.N.A. Mais, différence capitale, le R.N.A. (T) ne possède qu'un seul brin qui après une boucle se retourne sur lui-même en double chaîne hélicoïdale, les nucléotides placés face à face sur chaque hélice s'unissant entre eux par des liaisons hydrogène.

Ce R.N.A. (T) possède une double polarité. L'une relative à la nature de l'acide aminé qu'il a transporté. L'autre à l'emplacement que doit occuper ce même acide aminé sur la future chaîne polypeptidique à synthétiser.



Le R.N.A. (T) doit être considéré comme un adaptateur. La première de ces spécificités est liée au triplet de base. Ainsi, si après la fixation de l'acide aminé sur le R. N.A. (T), on transforme cet acide aminé en un autre, par exemple, la cystéine en alanine, ce dernier ira, guidé par le R.N.A. (T) inchangé, se fixer à la place prévue sur la chaîne protéinique pour la cystéine. Avec les méthodes dites " A contre courant " on a prouvé qu'il existe au moins un R.N.A. (T) pour chacun des 20 acides aminés incorporables mais souvent plus. Ainsi pour la leucine, on a isolé 3 et même 4 R.N.A. (T) différents. Nous verrons plus loin à quoi on peut rapporter ce fait.

Stade III - Transfert sur le ribosome -

Pour que ce transfert sur le ribosome soit possible, il faut la présence d'une enzyme qui est l'Amino acide polymérase, appelé encore Enzyme de transfert. Cette enzyme réclame comme co-facteur le G.T.P. De plus les travaux récents de MOLDAVE (1963)

SCHWEET (1963) - et LIPMANN (1962) et de leurs collaborateurs ont permis de montrer en fait l'existence de deux enzymes l'une transferrerait le R.N.A. (T) sur le ribosome sans toutefois former de liaisons peptidiques, l'autre formant la liaison, et, c'est justement l'Amino acide polymérase proprement dite. Notre équation devient alors :

Aa (R.N.A.) T + amino acide polymérase + G.T.P. $\longrightarrow$ Microsome.

Stade IV - Mécanisme de la synthèse.

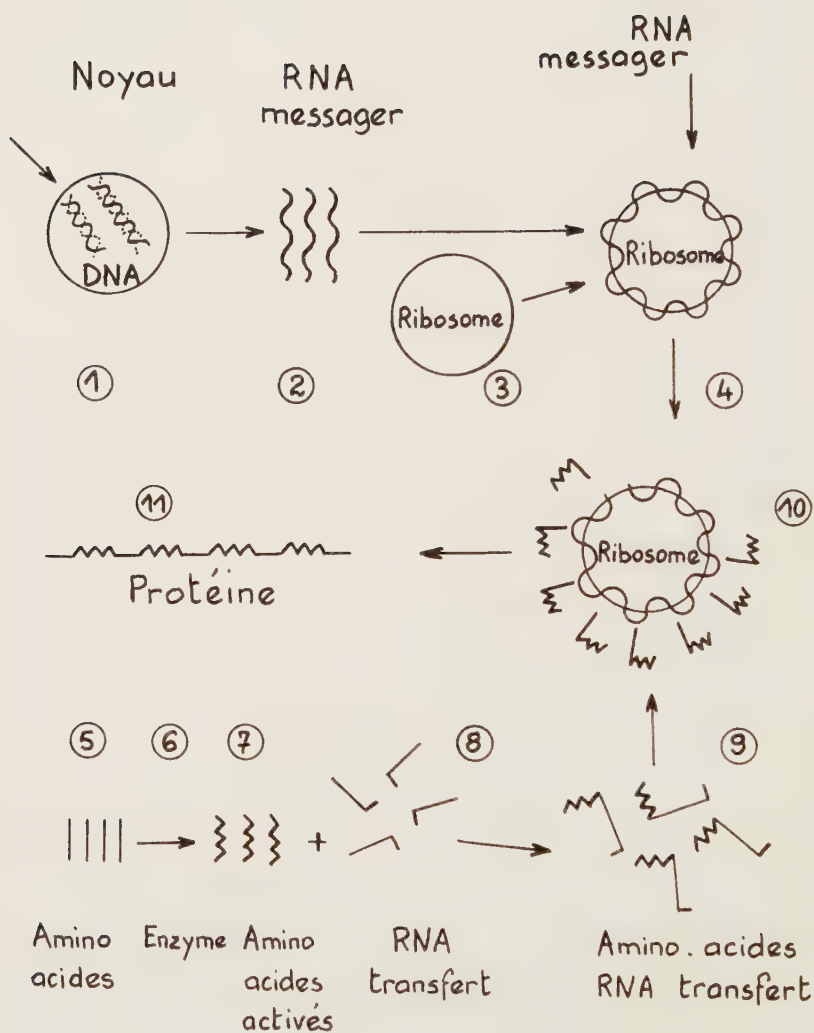
Le premier facteur considéré comme la matrice spécifique fut le R.N.A. ribosomal, les ribosomes étant en effet riches en chaînes nucléoprotéiniques ; leur teneur en R.N.A. et en protéines sont sensiblement égales.

D'autre part en soumettant le R.N.A. ribosomal à un gradient de saccharose on a prouvé qu'il sédimentait à deux reprises à 28 s et à 18 s. Donc on avait deux fractions différentes. Il semble alors que le ribosome soit le support de la biosynthèse mais sans en déterminer l'orientation, ceci étant réservé au R.N.A. messenger. Nous nous trouvons donc en face d'une véritable hiérarchie caractérisée par une succession de R.N.A. et nous pouvons dire avec MONOD (1961) que le complexe R.N.A. (T) - AA positionne les acides aminés et apporte le potentiel chimique nécessaire à la liaison peptidique. Le ribosome est la salle d'opération où s'effectue la biosynthèse des protéines. Le R.N.A. messenger est le transcripteur du code et dirige la synthèse des protéines, sa lecture se faisant dans le sens 3' - 5'. Sa progression s'effectuant le long du ribosome comme dans la gorge d'une poulie en synthétisant progressivement la chaîne protéique.

Stade V - Libération des protéines à partir du ribosome.

Lorsque le message a été lu sur toute sa longueur, le groupe carboxyle du dernier acide aminé se débarrasse de son R.N.A. porteur et l'ensemble de la chaîne quitte le ribosome. Mais on ne connaît pas encore la nature des signaux qui vont déterminer d'une part la fin de synthèse et d'autre part la séparation d'avec le ribosome.

S C H E M A G E N E R A L



C H A P I T R E I V

LES DIFFERENTES SORTES DE R.N.A.

D'après le chapitre précédent, il ressort qu'en définitive la cellule a besoin de trois sortes de R.N.A. pour la biosynthèse de ses protéines. Ce sont :

- le R.N.A. ribosomal (R)
- le R.N.A. de transfert (T)
- le R.N.A. messager (M)

Si nous avons déjà pu formuler l'hypothèse que chacun des vingt acides aminés est spécifiquement acheminé du pool cytoplasmique au contact du R.N.A. de transfert, une étude plus poussée de ces différentes sortes de R.N.A. s'impose.

R.N.A. (T)

Nous commencerons par le R.N.A. (T) en nous contentant de rappeler ce que nous avons déjà dit à son sujet, d'une part :

que sa molécule est plus petite que celle des deux autres R.N.A., son poids moléculaire étant d'environ 20 ou 24 000.

que des différences fondamentales ont été relevées dans sa structure secondaire. SPENCER, FULLER, WILKINS, BROWN (1962) ZUBAY (1958) au moyen de phénomènes de diffraction au rayon X ont montré que la molécule est formée d'une seule chaîne contenant environ 70 nucléotides; cette chaîne est retournée sur elle-même par une boucle au milieu de la molécule. Les nucléotides situés l'un en face de l'autre étant réunis par des ponts hydrogène.

Donc la structure du R.N.A. (T) est finalement en double hélice comme le D.N.A.

En plus tous les R.N.A. (T) présentent à une extrémité de leur molécule la même séquence nucléotidique : CMP - CMP - AMP qui est indispensable pour qu'un acide aminé soit fixé, l'autre extrémité étant constituée par le G.T.P.

L'autre pôle serait peut-être situé au sommet de la boucle et mériterait le nom d'anticodon (voir chapitre III).

A la polarité I va revenir le rôle de fixation de l'acide aminé par une enzyme activatrice.

A la polarité II celui de la combinaison au R.N.A. (M) grâce au triplet nucléotidique jouant le rôle d'anticodon.

Le R.N.A. (T) joue donc un rôle de décodeur car il va traduire le langage nucléique en un langage protéique, comme cela a été bien prouvé par les travaux de CHAPEVILLE (1963).

L'on admettait il y a encore quelques années que la place des acides aminés transférés par les R.N.A. (T) était déterminée dans la chaîne polypeptidique en formation par le R.N.A. ribosomique. Cette opinion a été complètement abandonnée grâce aux travaux de MONOD et JACOB (1959, 1961).

Pour ces auteurs, non seulement la séquence des nucléotides du R.N.A. ribosomal ne correspond pas à celle du D. N.A. des chromosomes, ce qui rend impossible la transmission du code génétique par ce R.N.A. ribosomique, mais encore la cinétique des synthèses protéiniques exigerait la dégradation et la synthèse continuelle des R.N.A. ribosomiques. Or la stabilité du R.N.A. ribosomique a été prouvée comme étant constante pendant plusieurs générations, car lorsqu'on a eu l'idée de marquer par des radioisotopes des bactéries en cours de développement, on s'est aperçu que le R.N.A. ribosomal présent dans les cellules mères possédait une stabilité remarquable.

mise en évidence du R.N.A. (M)

Plusieurs auteurs par leurs expériences respectives ont réussi à mettre en évidence l'existence d'un R.N.A. (M). Ainsi CHENG (1961) incuba des cellules amniotiques humaines pendant quelques minutes avec un précurseur marqué du R.N.A.. Il obtint alors un R.N.A. qui après fonctionnement se décompose en plusieurs types moléculaires dont un seul était marqué. Ce R.N.A. était remarquable par suite de trois caractères propres. Il était en effet :

- hétérogène
- de poids moléculaire élevé
- et possédait un renouvellement rapide.

cela fut également mis en évidence dans le noyau de cellules de thymus incubées in vitro.

De même KRUH (1964) en travaillant sur les réticulocytes arriva aux mêmes conclusions. D'autres travaux furent pratiqués sur des cellules de souches néoplasiques ; celles-ci possédaient également un R.N.A. à renouvellement rapide.

Synthèse du R.N.A. (M).

Le R.N.A. (M) réclame le D.N.A. pour sa biosynthèse, il se forme donc dans les noyaux.

WEISS (1962) eut le mérite d'isoler un enzyme le R.N.A. polymérase qui, à partir de nucléosides triphosphates eux mêmes dérivés des unités qui en se polymérisant ont formé le R.N.A. et en présence de D.N.A. synthétise la molécule de R.N.A. (M). Or, ce R.N.A. (M) est remarquable, car il peut former des hybrides avec le D.N.A. Donc, le D.N.A. sert de matrice au R.N.A. et des expériences ont prouvé qu'avec plusieurs types de D.N.A. on arrive à obtenir plusieurs types de R.N.A.

Avec des autoradiographies, la synthèse a pu être mise en évidence sur des chromosomes de diptères après incubation avec des précurseurs du R.N.A. On a ainsi observé la formation de R.N.A. (M) au contact du matériel génétique.

Le problème du lieu exact de la synthèse du R.N.A. (M) est encore à l'étude. Le R.N.A. (ribosomal) serait synthétisé dans le nucléole, le R.N.A. (messager) dans la chromatine, la preuve de cette localisation exacte est encore à faire, car si HARRIS (1964) a montré que le R.N.A. du noyau est détruit sur place sans passer dans le cytoplasme, cette théorie a été contredite par celle de DARNELL (1964) qui, lui, a observé un passage cytoplasme noyau.

L'étude de la durée de vie du R.N.A. a grandement bénéficiée de l'emploi d'un composé chimique utilisé en thérapeutique anticancéreuse, l'Actinomycine D, qui a la propriété de se combiner au D.N.A. au niveau de la guanine en empêchant la synthèse du R.N.A. et agissant donc comme un inhibiteur de la R.N.A. polymérase.

Ainsi, si l'on injecte un précurseur radioactif du R.N.A., que l'on attende que le R.N.A. (M) soit marqué puis que l'on fasse agir l'actinomycine, on calcule alors la durée nécessaire à la disparition de la radioactivité. En appliquant cette expérience sur une grande échelle, on a pu constater que :

- la durée de vie des R.N.A. (M) de l'hépatocyte est relativement très longue de quelques heures à quelques jours (cette dernière valeur étant surtout vérifiée au niveau d'organes tel que le cristallin).
- la durée de vie des R.N.A. (M) en provenance de souches héla est de l'ordre de trois heures.
- la durée de vie du R.N.A. (M) des micro-organismes étant très brève, de 2 ou 3 minutes.

Inter action R.N.A. (M) et Polysomes

Nous savons que le R.N.A. (M) possède une grande affinité pour les ribosomes, son mode de transport à partir du noyau restant inconnu.

Le R.N.A. (M) parcourt le ribosome en provoquant la synthèse d'une chaîne polypeptidique. Cependant, grâce à la microscopie électronique et au fractionnement en gradient de saccharose, on a pu établir qu'une molécule de R.N.A. (M) est combinée à plusieurs ribosomes pour former un ensemble spécial appelé polysome, ainsi on a pu voir en examinant les réticulocytes, cinq ribosomes unis entre eux par un filament que l'on suppose être le R.N.A. (M).

D'autre part, en essayant de dégager le lien R.N.A. (M) - Polysome on a pu prouver que :

- la ribonucléase dégrade le polysome en ribosomes.
- l'injection d'actinomycine fait disparaître le polysome.

Quant à la dynamique elle-même du polysome, elle a grandement été mise en valeur par l'emploi des marqueurs radioactifs ; le R.N.A. (M) parcourt successivement les différents ribosomes du polysome en synthétisant autant de chaînes polypeptidiques qu'il y a de ribosomes. Lorsque un des ribosomes a été entièrement parcouru, il se libère en lâchant dans le cytoplasme la chaîne protéique terminée, tandis que la partie antérieure du R.N.A. (M) s'engage sur un nouveau ribosome.

La conclusion pratique à tirer de cette découverte consiste en ce que la vitesse de synthèse des protéines est directement fonction de la vitesse de renouvellement du polysome. L'existence de ce dernier augmente considérablement la vitesse d'action du messenger, car plusieurs séquences protéiniques peuvent se synthétiser avec une seule molécule de R.N.A. (M) et cela bien que chaque ribosome n'ait qu'un seul centre actif.

Le R.N.A. (M) induit-il une protéine spécifique ?

Ce problème a été évidemment un des plus importants et des plus controversés suivant que la synthèse d'une protéine spécifique grâce à l'action du R.N.A. (M) reste ou ne reste pas indépendante de l'origine des ribosomes. L'on conçoit que de très nombreux travaux aient été axés sur ce problème. Ainsi, SCHWEET (1964) a stimulé l'incorporation d'acides aminés dans un extrait préincubé d'*escherichia coli*, par un R.N.A. de réticulocytes. En fractionnant les protéines par chromatographie, il constate que les protéines synthétisées sous l'influence du réticulocyte ne sont pas identiques aux protéines d'*escherichia coli* mais ne peut quand même pas les identifier à la globine ou même à des parties de globine. Donc, s'il est vrai que le R.N.A. de réticulocyte a modifié la synthèse des protéines on ignore si c'est

dans une direction induite par la nature de ce R.N.A.. KRUH (1961, 1962) à la suite d'autres travaux non parallèles, avec des systèmes comportant des réticulocytes de lapin et de mouton, a abouti à la présomption de l'existence d'un messenger de l'hémoglobine dans les réticulocytes, car en incubant les réticulocytes de lapin ou de cobaye comportant une fraction soluble de R.N.A. (T) avec des ribosomes de mouton ou même humains, il arriva à obtenir une hémoglobine propre soit du mouton soit humain. La seule interprétation possible de telles expériences à l'heure actuelle consiste en ce que le R.N.A. de réticulocytes contient du R.N.A. (M) spécifique de l'hémoglobine. Mais on n'a pas la preuve d'un messenger fonctionnel spécifique. Celle-ci serait apportée si on pouvait réaliser la synthèse d'une hémoglobine d'espèce A en ajoutant du R.N.A. (M) de réticulocytes d'espèce A à un système réticulocytaire d'espèce B. Jusqu'à présent ces expériences ont toutes échoué ; peut-être ces échecs sont-ils dus à l'existence d'un intermédiaire entre R.N.A. (M) et les ribosomes, cet intermédiaire étant éliminé lors de la préparation du R.N.A. (M). NIU (M.C) (1965) travaillant sur ce même sujet, a fait une très intéressante observation car en ajoutant du R.N.A. d'hépatocytes à des cellules néoplasiques en culture, il eut la surprise d'assister à l'apparition de plusieurs protéines spécifiques de la cellule hépatique, en particulier, la sérum albumine, la tryptophane-pyrolase et la glucose phosphatase. Cela fut dans quelques cas confirmé au sixième Congrès International de Biochimie de New-York (1964) et il est souhaitable qu'une confirmation encore plus générale soit établie par d'autres auteurs.

Est-ce à dire que tout soit aussi simple qu'il semblerait en résulter d'un exposé aussi schématique, assurément non.

Ainsi, en 1966, GALIBERT et Coll. ont mis en évidence l'existence d'un nouvel acide ribonucléique de faible poids moléculaire bien que de chaîne nucléotidique légèrement plus longue (105 nucléotides) que celle de l'ARN de transfert.

La présence de ce R.N.A. 5 S est probablement un phénomène général au niveau des organismes vivants, mais il serait prématuré d'affirmer quoique ce soit sans signification physiologique.

En conclusion, nous pouvons dire que la théorie du R.N.A. (M) énoncée primitivement par MONOD et JACOB (1961) à la suite de leurs expériences sur les microorganismes paraît s'appliquer également (avec des modifications mineures) aux animaux supérieurs.

C H A P I T R E V

LE CODE GENETIQUE.

Nous avons suffisamment vu au cours de nos exposés précédents que la totalité de l'information génétique est contenue dans le D.N.A. des chromosomes, puis, qu'elle est transmise au R.N.A. (M) qui transcrit une chaîne du D.N.A. La deuxième transcription aura lieu au niveau des ribosomes et commandera la séquence des polypeptides de la protéine synthétisée à leur niveau.

Par conséquent on admet que :

L'information génétique est enregistrée dans l'une ou l'autre molécule sous forme d'un code, ce code est fonction de l'ordre de succession des quatre bases A.T.G.C. pour le D.N.A. et A.U.G.C. pour le R.N.A. qui différencie les unités des acides nucléiques. Le problème va donc consister à expliquer comment s'effectue la traduction d'un code nucléinique à quatre lettres en un langage protéinique de vingt lettres représenté par les 20 acides aminés des séquences polypeptidiques. Il est bien évident que si chaque base correspondait à un acide aminé on aurait $4 = 4$ ce qui est insuffisant, de même si deux nucléotides voisins étaient nécessaires pour coder un acide aminé, on aurait $4^2 = 16$, ce qui ne donne pas satisfaction.

Or en 1954, GAMOW émit l'idée d'un code à triplets dans lequel il admettait que pour chaque acide aminé, le code consistait en 3 nucléotides voisins $4^3 = 64$, ce qui est même plus qu'il n'est nécessaire mais nous verrons comment CRICK (1963) a tourné la difficulté.

Plusieurs auteurs, cherchèrent ensuite à démontrer l'exactitude et le fonctionnement de ce codage.

GRUNBERG-MANAGO (1962) et OCHOA (U.S.A.) (1962) isolèrent une enzyme qu'ils nommèrent la Polynucléotide-phosphorylase et qui a la propriété d'assembler in vitro des chaînes de polyribonucléotides, c'est-à-dire des chaînes de R.N.A. Ces auteurs montrent que l'on peut arriver :

- soit à un homopolymère (formé par la répétition de nucléotides renfermant toujours une seule des quatre bases).

- soit à un copolymère (comportant plusieurs bases).

NIRENBERG M. (1963) mettant à profit les travaux d'OCHOA (1962) et les propriétés de cette polynucléotide phosphorylase montre que ces R.N.A. artificiels (et simplifiés) sont capables d'induire la synthèse de polypeptides également simplifiés. Ainsi, avec l'homopolymère U U U il obtient un polypeptide à base de phénylalanine donc :

U U U = Phé

Cet homopolymère est dénommé Codon.

De plus, NIRENBERG et MATTHAEI (1961) ont observé que l'acide polyuridylique déterminait l'incorporation exclusive de polyphénylalanine, les autres acides ajoutés au milieu n'étant pas utilisés.

Exploitant ces travaux sur une plus grande échelle, ces auteurs ensuite réussissent à synthétiser des polymères artificiels constitués de divers nucléotides et étudièrent leurs effets sur les amino acides incubés avec le système acellulaire ribosomique. Par ce moyen, on a réussi à déterminer les triplets spécifiques de la plupart des amino acides, comme en fait foi le tableau de TAVLITZKI (1962) où chaque acide aminé est codé suivant un ordre déterminé.

Phénylalanine .	—————→	U U U ou U U C
Sérine .	—————→	U C U
Proline .	—————→	U C C ou C C C
Valine .	—————→	U G U
Alanine .	—————→	U G C
Arginine .	—————→	U C G ou A G A
Gluthathion .	—————→	U G A ou G A A
Glycocolle .	—————→	U G C
Cystéine .	—————→	G U U
Tyrosine .	—————→	U A U ou U A C
Lysine .	—————→	U A A ou A A A ou A A G.

Devant une telle précision, les chercheurs eurent l'idée de modifier l'ordre imposé, ce qui donna lieu aux expériences de FRAENKELL-CONRATT (1964), SHRAMM et WITTMANN

(1961) sur le virus de la mosaïque du tabac. Le R.N.A. viral est ici composé d'une chaîne unique de 6 000 nucléotides. Or le R.N.A. viral de ces molécules, puisqu'il induit à lui seul la production de nouvelles molécules dans les cellules infectées, code leur structure primaire. Il était tentant d'altérer ce R.N.A. viral afin de voir si cette modification correspondait à une altération primaire des nouvelles protéines introduites. Ces auteurs faisant donc agir l'acide nitreux, constatent alors qu'en présence de cet acide, l'adénine du R.N.A. viral se transforme en guanine tandis que la cytosine devient uracile. On a donc induit chimiquement une mutation, une nouvelle souche est constituée et en reprenant le tableau de TAVLITZKI (1962) nous constatons les différences suivantes :

<u>Souche normale</u>		<u>Souche mutante</u>
Proline U C C	. —————→	U U C Leucine
Sérine U U C	. —————→	U U U Phénylalanine
Thréonine U C C	. —————→	U U C Sérine
Leucine U U C	. —————→	U U U Phénylalanine
Acide glutamique U C G	. —————→	U U G Valine

Ce code possède certains caractères qui ont été établis en comparant les données de la génétique et celles de la biochimie ; que ce soit chez les microorganismes ou chez les animaux supérieurs, on est arrivé aux conclusions suivantes :

- 1) Le code est à triplets : nous l'avons vu précédemment.
- 2) Le code n'est pas chevauchant : Si nous prenons les séquences susceptibles d'être formées par les bases suivantes, le code serait chevauchant si nous avions la succession :

A T G - T G C - G C A - C A T etc.....

c'est-à-dire codage par un triplet dont les deux premières lettres seraient les deux dernières du triplet précédent. Or KHORANA (1960) a démontré directement que le codage n'est pas chevauchant car avec la séquence G A A G A A G A A on aurait un copolypeptide de séquence déterminée, lysine, argine glutathion. Et, en fait, on a trois homolypeptides précis dont la nature dépend uniquement de l'endroit où commence la lecture :

ou G A A G A A G A A (glutathion)

ou G A A G A A G A A G (Lysine)

ou A G A A G A A G A A (Arginine)

- 3) Le code est ponctuel : on a supposé que parmi les $4^3 = 64$ triplets de nucléotides possibles, seule une fraction a un sens et détermine ainsi les 20 acides aminés ; le reste intervenant comme ponctuation. On connaît maintenant tout le code et l'on sait que 62 sur 64 des codons ont un seul sens, les deux restants sont des triplets " non-sens " et interviennent seulement à titre de ponctuation, ce sont : U A G et U A A.
- 4) Le Code est universel : le même acide est codé par le même codon chez tous les êtres vivants. Ainsi le codon U U U permet l'incorporation de la phénylalanine in vitro avec des ribosomes, des enzymes, et des R.N.A. (T) en provenance soit de diverses bactéries, soit d'organismes d'animaux supérieurs. On a aussi réussi la biosynthèse de l'hémoglobine avec des ribosomes et du R.N.A. (M) de réticulocytes de lapin accompagné de R.N.A. (T) d'eschérichia coli, les codons du lapin codant les mêmes acides aminés que les codons de eschérichia coli.
- 5) Le Code est dégénéré : ce qui signifie qu'un même acide aminé est codé par plusieurs triplets différents. Ce fait ne crée aucune ambiguïté pour l'interprétation du code , mais fait apparaître la nécessité d'un grand nombre de triplets donnant l'explication qu'à 20 acides aminés correspondent 4^3 codons.

Toutefois, si le code n'était pas dégénéré, le changement d'une ou deux bases conduirait à un codon " non-sens ", ne correspondant à rien et la synthèse se stopperait à ce niveau. Ce fait provoquant le changement d'un acide aminé, produit une mutation " faux-sens " que nous retrouverons dans les chapitres ultérieurs. De toute façon nous retenons que l'on a 3 codons en moyenne pour un seul acide aminé.

C H A P I T R E VI

LA REGULATION DES ACTIVITES ENZYMATIQUES

Induction enzymatique :

L'on sait depuis plus de soixante ans que lorsque des microorganismes sont cultivés sur un milieu qui leur est étranger ils développent un nouveau système enzymatique qui leur permet de croître sur ce milieu.

MONOD et Coll. (1961) ont constaté que si l'on cultive une souche d'*Eschérichia Coli* sur un milieu dépourvu de galactoside, l'enzyme correspondant est dosé à la concentration de 1 à 10 unités : par contre si l'on ajoute au milieu de culture le substrat qui est le galactoside, l'enzyme se forme alors en même temps et on le titre jusqu'à 10 000 unités/mg. Par conséquent on peut dire que la présence de substrat a induit la formation de l'enzyme capable de l'utiliser : c'est le phénomène de l'adaptation enzymatique ou de l'induction.

Mais on a également observé que, si le substrat comme le lactose se comportait comme un inducteur d'enzyme (ici la lactase), des analogues de ce substrat comme le thiogalactoside, qui, lui n'est pas hydrolysé par l'enzyme, peuvent se comporter comme des inducteurs ; d'où certains auteurs ont cru pouvoir déduire qu'un certain type de molécules provoque la formation de l'enzyme indépendamment de la valeur métabolique propre de cette molécule.

Nous ne ferons que rappeler l'exemple très important de la pénicilline qui induit la formation de pénicillinase chez certains microorganismes comme notamment le *Bacillus Cereus*. Cela est important car la pénicillinase inhibe la pénicilline, empêche son action et crée ainsi des résistances. Sur ce phénomène de l'induction, il est important de noter d'abord que la synthèse de l'enzyme se produit très peu de temps après que l'on ait ajouté l'inducteur dans le milieu, environ une minute; ensuite si l'on élimine l'inducteur du milieu, la synthèse, réciproquement, s'arrête dans la minute suivante .

Répression Enzymatique.

Les microorganismes peuvent croître dans un milieu presque exclusivement minéral, la source de carbone n'étant pas spécifique, et à partir de ce milieu ils sont capables de synthétiser les composés organiques nécessaires à leur croissance. Or des expériences ont prouvé que si l'on ajoute au milieu un acide aminé déterminé, la synthèse de cet acide est stoppée instantanément, et, fait intéressant, cette addition d'acide aminé, produit terminal, stoppe sa synthèse au niveau du produit initial ; nous avons là un phénomène particulièrement net, capable d'éviter la genèse de formations inutiles, et auquel on a donné le nom de répression enzymatique.

Gènes responsables de la biosynthèse enzymatique.

Pour expliquer de tels phénomènes, JACOB et MONOD (1961) ont imaginé que, à côté des gènes habituels, traditionnels (si l'on peut dire) ou gènes de structure existaient d'autres gènes opérateurs et gènes régulateurs.

a) Gène de structure :

La structure moléculaire des protéines est entièrement déterminée par les gènes de structure, car à chaque chaîne polypeptidique correspond une séquence nucléotidique spécifique. Ainsi, au D.N.A. (gène de structure) correspond un R.N.A. (M) méritant également le nom de R.N.A. polysomal ; ce processus une fois terminé, le R.N.A. (M) est dépolymérisé ; la séquence polypeptidique se détache de la matrice ribosomale qui redevient libre pour une nouvelle transcription.

Les gènes de structure sont des séquences désoxyribonucléotidiques capables de déterminer la structure spécifique de la protéine. Chaque enzyme étant sous la dépendance d'un gène défini, une mutation survenant à son niveau, va se traduire par une altération de la propriété moléculaire de l'enzyme. Enfin, d'autres travaux ont montré que les gènes de structure qui gouvernent la synthèse des divers enzymes impliqués dans une même séquence

métabolique occupent sur le chromosome des loci adjacents ce qui démontre la corrélation entre la structure génétique et les fonctions biochimiques.

b) Gène opérateur:

La synthèse du R.N.A. (M) est un processus séquentiel orienté, déclenché à partir de certains loci spécialisés du D.N.A. chromosomique. Ces loci sont dénommés : Opérateurs.

Le rôle de ces opérateurs est d'avoir sous leur dominance la transcription de plusieurs gènes adjacents correspondant chacun à des enzymes impliquées dans la même synthèse métabolique.

Nous pouvons dire que l'opérateur et les gènes de structure qui lui sont attachés correspondent en somme à une unité génétique d'expression coordonnée que l'on a appelé : l'opéron.

c) Gènes régulateurs :

A chaque opéron correspond, séparé de lui par un certain intervalle, un gène régulateur qui agit en libérant une substance cytoplasmique " le represseur " capable de s'associer réversiblement à l'opéron.

Le represseur peut empêcher l'opérateur d'ordonner la transcription de l'opéron ou bien réagir avec d'autres molécules spéciales de faible poids moléculaire nommées : Effecteur.

MONOD et ses collaborateurs (1961) ont résumé cette régulation dans le schéma suivant :

- 1) ou l'effecteur en se combinant au represseur empêche son union avec l'opérateur, à ce moment la transcription est autorisée.
- 2) ou il permet son union avec l'opérateur : la transcription est interdite.

Une telle situation est des plus favorables pour l'économie cellulaire.

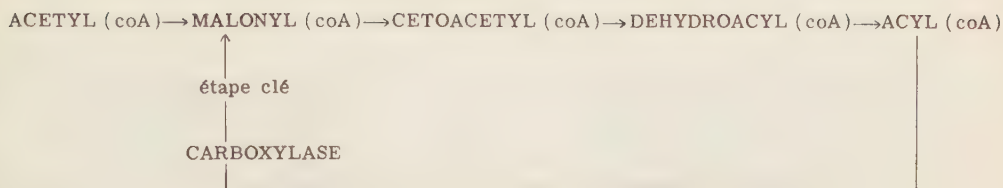
Considérons une bactérie qui double son volume en une heure et qui pour ce fait a besoin d'utiliser chaque minute 3% environ de son poids en sucre, si elle était obligée de synthétiser en permanence tous les enzymes du catabolisme des sucres il y aurait alors une perte métabolique et énergétique considérable : c'est le rôle de la répression et de la rétroinhibition d'éviter cette perte. Il est maintenant facile de comprendre le phénomène de l'induction et de la répression ; dans l'induction, le substrat inactive le répresseur et autorise la transcription ; dans la répression le métabolite qui est l'acide aminé terminal déclenche le répresseur, le métabolite qui est l'acide aminé initial inhibe le répresseur et commande immédiatement la synthèse.

Contrôle de l'activité enzymatique.

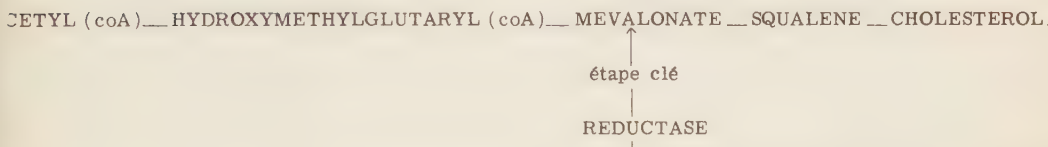
Le contrôle de la synthèse enzymatique constitue un mécanisme de régulation métabolique d'action retardée, car d'une part : l'induction de l'enzyme suppose un certain temps de latence et d'autre part la répression n'entraîne pas l'inactivité de l'enzyme déjà élaborée. En plus, il existe des mécanismes de régulation d'action plus rapide agissant non plus sur la synthèse enzymatique mais sur son activité ; il ne s'agit plus d'inhibiteurs classiques, mais d'une régulation par FEED BACK.

Pour prendre un exemple de FEED BACK enzymatique, nous utiliserons la cyclophorase, avec en tête une enzyme régulatrice qui, en principe est la première de la séquence. L'activité de cet enzyme n'est pas inhibée par les produits intermédiaires, mais par le produit terminal. Donc ce produit terminal joue le rôle d'un signal physiologique, qui permet à l'enzyme régulateur de contrôler les besoins de la cellule suivant le milieu, cette inhibition porte le nom " d'effet allostérique ".

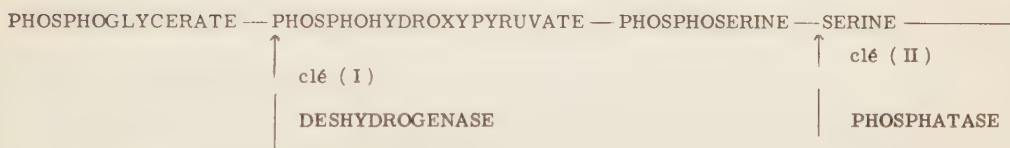
De nombreux exemples de rétroinhibition et inhibition existent ainsi. Si nous prenons la biogénèse des acides gras, nous avons la hiérarchie suivante :



De même si nous prenons le cholestérol :



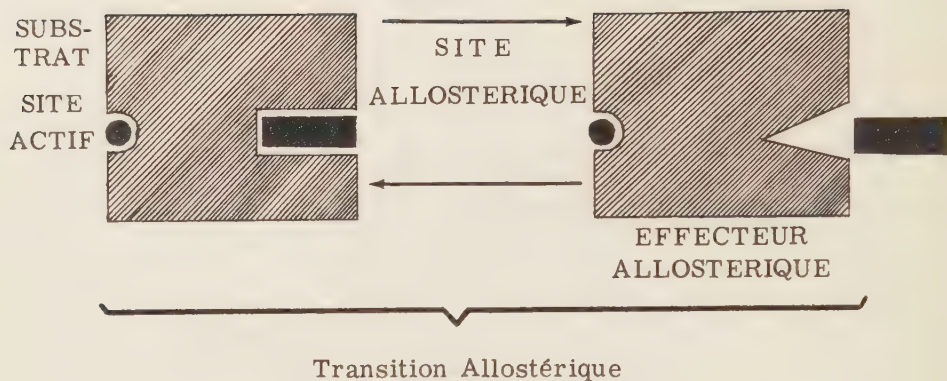
Enfin les sérines :



Effet allostérique.

Si nous examinons de plus près cet effet allostérique, nous constatons que certaines enzymes et de façon plus générale certaines protéines possèdent au moins deux sites récepteurs.

- un site actif qui, combiné au substrat, est responsable de l'activité biologique de la protéine.
- un site allostérique complémentaire de la structure d'un autre métabolite nommé effecteur avec lequel il se combine de façon spécifique et réversible. Cet effecteur en se combinant avec la protéine spécifique provoque un changement de structure discret nommé : Transition allostérique et qui peut empêcher la réaction enzyme-substrat.



On est allé plus loin et on émet l'idée que le répresseur serait une protéine allostérique avec deux sites de spécificité différents :

- l'un combiné à l'opérateur
- l'autre à l'effecteur.

Il est donc permis de supposer que l'effet activateur ou inhibiteur des petites molécules que sont les effecteurs sur la synthèse du R.N.A. (M) se produit par l'intermédiaire d'une transition allostérique du répresseur.

Conclusion .

Les protéines allostériques apparaissent comme des agents essentiels des systèmes de contrôle biochimique, car d'une part elles réagissent immédiatement et réversiblement ; d'autre part elles réagissent avec des effecteurs spécifiques sans analogie structurale avec leur propre substrat, et, de plus elles pourraient exercer un contrôle spécifique sur la synthèse protéique.

A la lumière de ces travaux, il est remarquable de constater que chez les êtres supérieurs, toutes les cellules

portent le même bagage génétique et que seules, quelques unes des potentialités sont exprimées. L'action des systèmes de régulation bloquant une partie du génome tout en permettant le fonctionnement de certains gènes apportera quelques lueurs sur le problème de la différenciation cellulaire.

Mais d'ores et déjà on peut affirmer que le génome de l'individu apparaît dépositaire du plan architectural détaillé d'un programme d'activité déterminé et des moyens de contrôler son exécution.

DEUXIEME PARTIE

APERÇU SUR QUELQUES APPLICATIONS

PHYSIOPATHOLOGIQUES

C H A P I T R E I

MUTATION, DELETION et CROSSING OVER

(Interprétation chimique de quelques hemoglobinopathies)

La plupart des hémoglobinopathies et en particulier la drepanocytose correspondent à des maladies génétiques, des maladies moléculaires.

Maladies moléculaires.

Certaines transformations sont susceptibles d'intervenir au niveau des séquences desoxyribonucléotidiques, elles sont de 4 ordres :

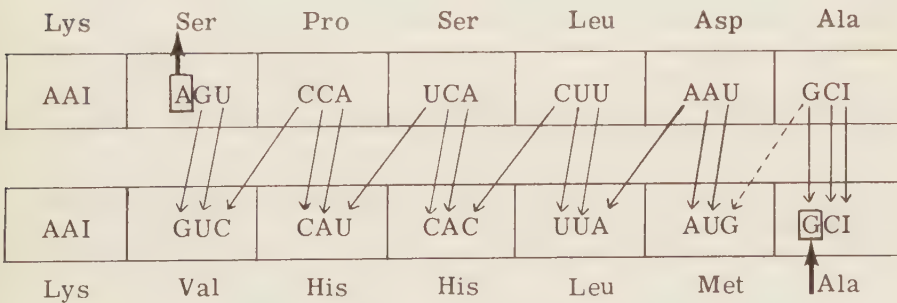
1 - Les mutations :

C'est le remplacement d'une base d'un triplet nucléotidique, par une autre. Le codon est donc changé et l'acide aminé prévu sera remplacé par un autre : il en résulte la biosynthèse d'une protéine nouvelle, différent de la protéine normale par un seul acide aminé. Cette seule différence peut entraîner des conséquences, soit sévères, soit insignifiantes.

2 - La délétion :

Elle se caractérise par le manque d'une base, la lecture sera donc perturbée.

Délétion



Addition

Si la délétion a lieu vers le début, la protéine synthétisée sera complètement différente de la protéine normale, et ne sera pas fonctionnelle.

3 - S'il y a alors addition d'une base supplémentaire, la lecture peut redevenir normale à partir de cette base.

4 - Deux gènes peuvent s'échanger entre eux, c'est le Crossing over, un fragment de chromosome se met sur un autre chromosome et vice-versa.

C'est ainsi que dans le cas de l'hémoglobine principale (HbA_1) = $\alpha 2 \beta 2$ et de l'hémoglobine accessoire (HbA_2 = $\alpha 2 \delta 2$) il y a possibilité d'échange entre une partie de la chaîne β et une partie de la chaîne δ . On obtient ainsi une hémoglobine anormale, résultant d'un crossing over asymétrique : c'est l' " hémoglobine de Lepore ".

Mais regardons les choses d'un peu plus près. La globine de l'hémoglobine est composée de 4 chaînes peptidiques dont chacune est en rapport avec un hème suivant leur structure les chaînes sont appelées α (14) monopeptides, β (140) et encore γ et δ . L'hémoglobine principale chez l'adulte normal peut être symbolisée comme il suit : $\text{HbA}_1 = \alpha 2 \beta 2$ ce qui correspond à un total de 574 acides aminés et à un poids moléculaire de 64 458. Cette hémoglobine du type A ou A_1 constitue normalement 97 à 99 % de la charge hémoglobinique totale de l'adulte. Le reste de l'hémoglobine adulte renferme deux chaînes α et deux δ , d'où : $\text{HbA}_2 = \alpha 2 \delta 2$. Le fœtus, lui, a une hémoglobine spéciale HbF , composée de deux chaînes α et de deux chaînes γ et qui disparaît totalement à l'état normal chez l'adulte.

Le diagnostic des hémoglobinopathies est basé sur l'étude de l'hémoglobine : résistance à la dénaturation alcaline , électrophorèse, chromatographie.

Pour les besoins de la présentation nous distinguons trois cas :

- A - Dans la Thalassémie, le trouble primitif est le défaut de synthèse d'une des chaînes normales α ou β . L'organisme compense incomplètement le déficit par production accrue de chaîne γ ou δ . Dans la β -thalassémie, manquent les chaînes β ; si la compensation comporte la production de chaînes γ , apparaît l'hémoglobine fœtale : $HbF = \alpha_2 \gamma_2$ (surtout dans les races africaines et asiatiques), l'hyperproduction de la chaîne δ donne de l'hémoglobine A_2 , forme la plus fréquente en Europe. Le stigmate hématologique principal est la présence de cellules en cible (target cells) ayant une résistance osmotique exagérée. Suivant l'importance de l'atteinte clinique et hématologique, sont décrites les thalassémies majeures (maladie de COOLEY) mineures et minimes.
- L' α thalassémie est létale à l'état homozygote. A l'état hétérozygote un excédent de chaînes β ou γ entraîne une polymérisation qui donne des hémoglobines anormales β_4 , ou H ; γ_4 ou Bart.

Thalassémie et autres hémoglobines anormales (drépanocytose, hémoglobine Pylos, Lepore ...) peuvent être associées chez un même malade, car elles dépendent de gènes différents.

- B - Certaines hémoglobinopathies sont caractérisées par l'existence d'anomalies d'une chaîne peptidique, le plus souvent la chaîne β : La drépanocytose (anémie à cellules falciformes (sickle cells anemia)).

Il y a plus de 10 ans, PAULING proposa à son élève ITANO, de rechercher le substratum biochimique d'une maladie qui est fréquente chez les noirs américains, et que l'on a retrouvée par la suite dans toute l'Afrique : la drépanocytose.

- Les sujets qui en sont atteints font une anémie avec des thromboses et des embolies. Si on examine au microscope des globules rouges de ces sujets, on les verra prendre une forme en faucille (d'où le nom) au fur et à mesure que l'on fera baisser la pO_2 (d'où les crises d'hémolyse des malades en altitude).

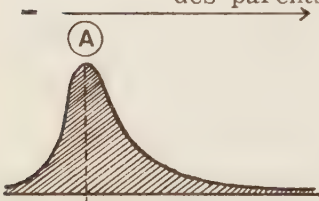
C'est une anémie grave, car les sujets qui en sont victimes survivent rarement au-delà de la 20ème année. Comme le globule rouge contient essentiellement de l'hémoglobine,

il était tentant de penser que la maladie était due à une anomalie de l'hémoglobine. ITANO a réussi à mettre en évidence cette anomalie.

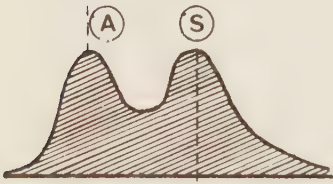
Critères chimiques.

a) On peut faire appel à l'électrophorèse en veine liquide dite de Tiselius et comparer avec ITANO la migration de l'hémoglobine :

- d'un sujet normal
- d'un sujet atteint de la maladie
- des parents de ce sujet .



I - Sujet normal qui a de l'hémoglobine A.



II - Parents d'un sujet atteint de drépanocytose qui ont :

- de l'hémoglobine A
- de l'hémoglobine S anormale



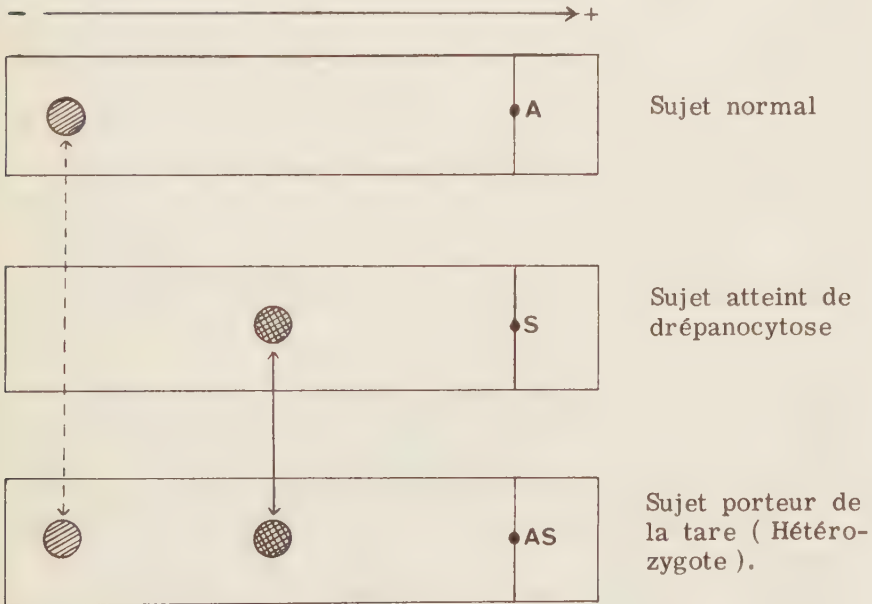
III - Sujet atteint de drépanocytose dont toute l'hémoglobine est anormale: S

Dans le cas II : le sujet est normal cliniquement, mais il est porteur de la tare. On peut déceler cette tare par la méthode de Tisélius. Mais cette méthode a l'inconvénient d'être longue : on lui préfère :

b) L'électrophorèse sur papier : elle a été mise au point par Tisélius également après la précédente.

Elle se pratique à pH 8,6 et on obtient les images suivantes :

- l'hémoglobine du sujet normal migre plus rapidement que celle du sujet atteint de drépanocytose.
- le sujet porteur de la tare, mais normal cliniquement, présente les deux hémoglobines : normale et anormale.



Transmission de la maladie.

La drépanocytose est une maladie autosomique. Pour que le sujet soit atteint, il faut qu'il soit porteur des deux gènes anormaux : toute son hémoglobine est anormale.

Le sujet hétérozygote porteur de la tare a un gène anormal et un gène normal et il a dans son sang deux hémoglobines.

On peut par la méthode précédente, dans une fratrie détecter les sujets malades, les sujets porteurs de la tare et les sujets sains.

La transmission de la tare obéit aux lois de l'hérédité.

♀ \ ♂	a	b
a	aa	ab
b	ab	bb

Homme $\frac{a}{b}$ Femme $\frac{a}{b}$
 soit $\frac{aa + ab + ab + bb}{4}$

Soit deux individus homme et femme portant tous les deux le gène a normal et le gène b anormal.

Leur descendance s'étalera ainsi :

- 25 % seront aa : donc normaux, avec une hémoglobine A normale
- 50 % seront ab : donc hétérozygotes porteurs de la tare, avec 2 hémoglobines A et S présentes dans leur sang, mais cliniquement ils n'ont pas de troubles.
- et 25 % seront bb : donc ils présentent une drépanocytose avec uniquement de l'hémoglobine S dans leur sang.

Ces sujets font des anémies hémolytiques très graves.

Il sera déconseillé aux sujets porteurs de la tare d'épouser un sujet également porteur de la tare, car actuellement il n'y a aucune possibilité thérapeutique contre la drépanocytose.

Cause de l'anomalie.

L'hémoglobine S est :

- Anormale par ses propriétés électrophorétiques
- Anormale dans sa forme réduite qui est 100 fois moins soluble que la forme réduite de l'hémoglobine A.

On peut donc dresser un tableau de la maladie en langage moléculaire.

Lorsque l'hémoglobine oxygénée arrive aux tissus, elle laisse son oxygène et se trouve alors sous forme réduite. Or cette hémoglobine réduite est beaucoup moins soluble que l'hémoglobine réduite normale. Elle est donc susceptible de précipiter à l'intérieur du globule rouge qui lui même va se contracter au niveau du capillaire. Les capillaires vont s'obstruer, entraînant des désordres circulatoires. Ces globules rouges vont être détruits, d'où anémie hémolytique et thrombus, résultant en première approximation de la diminution de solubilité de l'hémoglobine réduite.

Nous savons que tout est dû au fait qu'un seul acide aminé de la chaîne β est différent de tous les autres acides aminés de la chaîne normale.

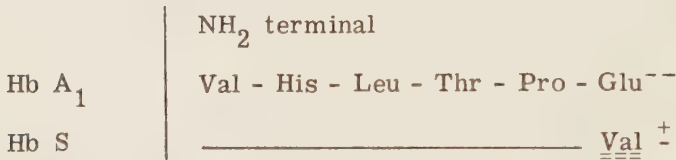
Méthode d'Ingram :

Elle fait appel à la dénaturation de l'hémoglobine puis à l'hydrolyse trypsique qui attaque les liaisons peptidiques où sont engagés lysine et arginine. On découpe ainsi la molécule en un certain nombre de tranches et on la soumet à l'électrophorèse dans une dimension et à la chromatographie dans une autre dimension.

On a une répartition géographique des tâches peptidiques qui permet de comparer le "fingerprint" (empreinte digitale) d'une hémoglobine normale et d'une hémoglobine anormale. On peut ainsi localiser le peptide porteur de l'anomalie. On reprend le peptide par l'élution, on analyse sa composition en acides

aminés. On constate que :

- Dans l'hémoglobine normale, l'acide aminé n° 6 de la chaîne β est un acide glutamique.
- Dans l'hémoglobine de la drépanocytose c'est une valine.



Or l'acide glutamique est porteur de deux charges négatives, alors que la valine est neutre. Il y a donc modification de la charge de l'hémoglobine et par conséquent modification de la mobilité électrophorétique de l'hémoglobine, ainsi que modification du comportement du peptide porteur de l'anomalie.

C'est sur la chaîne β de l'hémoglobine que l'acide aminé n° 6 a été changé par une mutation qui suffit à entraîner toute la suite des phénomènes.

A côté de cette hémoglobine S, l'exploration systématique des hémoglobines a permis de découvrir plus de 50 hémoglobines anormales nouvelles.

Exemples :

Chaîne β Carbone n°	Acide aminé dans		Hémoglobine Anormale
	Hb A	Hb anormale	
6	Glu	Lys	C (migrant comme HbA ₂)
6	"	Val	S (hémoglobinoses très graves)
7	"	Gly	G (San José)
26	"	Lys	E (prédominante Thaï- lande)
63	His	Arg	ZÜRICH
67	Val	Glu	M Milwaukee (1 et 2)

Nous voyons sur ce tableau que dans l'hémoglobine A normale, l'acide aminé n° 6 de la chaîne β est l'acide glutamique. Si l'acide aminé n° 6 est :

- La lysine (acide basique) : on est en présence d'une hémoglobine C.
- La valine (acide aminé neutre) : on est en présence d'une hémoglobine S, etc...

Toutes ces anomalies de l'hémoglobine ont permis de faire des études anthropologiques, et de dessiner les grandes migrations de population dans les temps anciens.

Toutes les anomalies qui ont été décrites sont compatibles avec le code génétique tel qu'il est connu aujourd'hui.

Exemple : Cas de l'acide aminé n° 6 de la chaîne β .

- dans l'hémoglobine normale : acide glutamique commandé par le triplet nucléotidique UAG.
- dans l'hémoglobine S valine : UAG est transformé en UUG.
- dans l'hémoglobine C lysine : UAG est transformé en UAA.



C - PERSISTANCE DE L'HEMOGLOBINE FOETALE.

L'existence chez le fœtus et par prolongation plus ou moins sensible et plus ou moins anormale chez le nouveau-né, de protéines analogues à celles de l'adulte mais différentes cependant par quelques détails de structure, est bien connue à l'heure actuelle. En nous inspirant du travail d'ensemble de Dominique LABIE (1965) et en schématisant à l'extrême nous pouvons souligner les principaux points suivants :

L'hémoglobine de l'adulte et l'hémoglobine du fœtus possèdent le même poids moléculaire et la même structure dans l'espace. La principale différence physico-chimique correspond à

la différence de résistance, à la dénaturation alcaline et à la dénaturation acide. Le test de dénaturation alcaline est la méthode de dosage de l'hémoglobine foétale actuellement la plus utilisée. A pH = 12, l'hémoglobine adulte se transforme en hémocromogène insoluble par retour à la neutralité, alors que l'hémoglobine foétale n'est pas dénaturée. On peut trouver dans le sang du cordon des cellules renfermant chacune les deux variétés d'hémoglobine, ce qui témoigne en faveur d'un changement intra-cellulaire au cours du développement et non d'un changement de population des globules rouges (BETKE et KLEIHAUER, 1958).

En plus de leur résistance à la dénaturation alcaline et acide, les hémoglobines foétale ou adulte humaines présentent des différences spectroscopiques, des différences de migration électrophorétiques et de comportement chromatographique.

Nous insisterons surtout sur le fait que l'hémoglobine adulte apparaît à l'état de traces dès le début de la vie foétale. L'hémoglobine embryonnaire disparaît au plus tard vers la deuxième semaine. L'hémoglobine adulte se développe lentement jusque vers la 32^{ème} ou la 34^{ème} semaine. Par suite, il y a accentuation au profit de l'hémoglobine adulte et diminution de l'hémoglobine foétale sans que la naissance puisse être considérée comme une étape absolument décisive en l'occurrence. Toutefois, vers l'âge de 6 mois, l'hémoglobine foétale a normalement disparu de la circulation.

Le fœtus a une hémoglobine spéciale F composée de deux α et de deux γ (Hb F = $\alpha_2 \gamma_2$). Cette chaîne β qui intervient de façon si importante dans la composition de l'hémoglobine foétale comprend 146 acides aminés comme il en est pour la chaîne β de l'hémoglobine adulte, mais sur lesquels 42 sont différents. On remarque notamment la présence de quatre résidus d'iso-leucine par chaîne γ alors que cet acide aminé est absent de la chaîne β . Par contre, le centre basique de la chaîne β comprise entre les résidus 50 à 66 est identique.

Suivant INGRAM (1961), il est permis de concevoir l'évolution de toutes les chaînes hémoglobiniques à partir d'une origine communecar un processus général de mutation, puis de duplication avec translocation serait capable d'expliquer l'augmentation du nombre de gènes. Ainsi, le gène de la chaîne α aurait subi une duplication donnant naissance au gène α et au gène γ .

Ultérieurement, une tétramérisation aurait donné naissance à l'hémoglobine fœtale $\alpha_2 \gamma_2$. Dans une étape plus récente de l'évolution philogénique, la chaîne γ aurait engendré les chaînes γ et β puis cette dernière les chaînes γ et δ . Ainsi, par accouplement réciproque auraient pris naissance les hémoglobines F, A_1 puis A_2 .

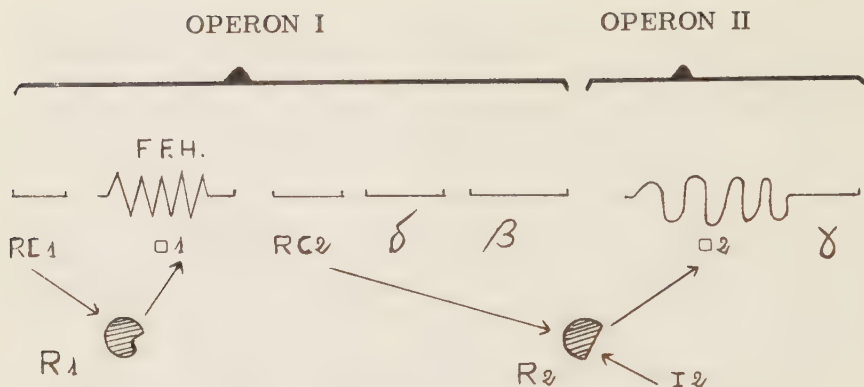
La persistance anormale d'hémoglobine fœtale chez l'adulte est extrêmement fréquente au cours de nombreuses affections hématologiques. D'une part, on retrouve des taux variables d'hémoglobine fœtale dans tous les types d'anémies, qu'il s'agisse d'anémies acquises ou d'anémies héréditaires liées à la présence d'une hémoglobine secondaire. C'est là un phénomène secondaire et en quelque sorte banal. Par contre, il est deux affections héréditaires au cours desquelles la présence d'hémoglobine fœtale doit être considérée comme un caractère primordial et non plus secondaire.

Chacun connaît, en effet, la Thalassémie citée plus haut et qui, dans la forme majeure décrite par COOLEY en 1925, correspond à une anémie hémolytique grave prédominante dans le Bassin Méditerranéen, bien qu'assez largement répandue dans le monde entier. Le trouble primitif est le défaut de synthèse d'une des chaînes normales α ou β . L'organisme compense incomplètement le déficit par production accrue des chaînes γ ou δ .

Nous retiendrons simplement ici, que dans la forme clinique décrite par COOLEY, le taux d'hémoglobine fœtale peut varier de 20 à 90 % sans être d'ailleurs directement lié à la gravité de la maladie.

De façon plus exceptionnelle, EDINGTON et LEHMANN ont décrit en 1965 une affection caractérisée par une " persistance héréditaire de l'hémoglobine F " à laquelle ne correspond aucune symptomatologie particulière. WHEELER et KREVANS ont même cité en 1961 le cas d'un enfant en bonne santé qui possédait 100 % d'hémoglobine fœtale.

En ce qui concerne la régulation de la biosynthèse de l'hémoglobine adulte et fœtale, un certain nombre d'hypothèses ont été présentées parmi lesquelles nous ne retiendrons que celle de ZUCKERKANDL (1964) qui, titre d'application de la théorie de JACOB et MONOD (1961) a proposé le schéma génétique suivant :



Il faudrait admettre que les gènes β , δ et γ , bien que situés sur le même chromosome, dépendent cependant de deux opérateurs distincts. L'opérateur I qui tient notamment sous sa dépendance la synthèse des chaînes β et δ est elle-même soumise au régulateur R_1 . Le gène de la chaîne γ dépend d'un autre opérateur II, présent sur le même chromosome et soumis lui-même à un autre régulateur R_2 . Mais ce régulateur R_2 fait partie de l'opéron I qui comprend également des gènes β et δ . Quand l'opéron I fonctionne, le régulateur R_2 est activé et réprime la synthèse de γ . Inversement, quand l'opéron I est inhibé, ni β ni δ ni R_2 ne peuvent être formés et la synthèse de γ peut avoir lieu. Ainsi pourrait s'expliquer un certain balancement entre les synthèses des chaînes β et δ d'une part et de la chaîne γ d'autre part.

On devrait considérer l'hémoglobine foetale familiale comme une conséquence directe d'une mutation " opérateur-négative " au niveau de l'opéron I.

Au contraire, dans le cas de la Thalassémie, l'activation de la synthèse en ce qui concerne la chaîne ne serait qu'un effet secondaire correspondant à l'activation trans de l'inducteur 2.

Toutefois, ces tentatives d'explication sont en pleine évolution et il ne saurait être question pour le moment d'en présenter une seule comme définitive.

C H A P I T R E I I

TRANSFERT DES INFORMATIONS ACQUISES

(Interprétation chimique de la mémoire)

Jusqu'à ces toutes dernières années, il eut pu paraître impensable que l'étude de la mémoire sorte du domaine de la psychologie pour pénétrer dans celui de la pharmacologie ou de la biochimie.

Laissant aux philosophes toutes recherches relatives à une définition d'ordre psychologique de la mémoire, nous soulignons simplement en nous appuyant sur un travail très documenté de UNGAR G. (1967) que la façon dont les organismes vivants réagissent sur les stimuli, se trouve déterminée par 3 catégories essentielles de facteurs.

Le premier facteur se confond avec une des propriétés fondamentales de la vie elle-même à savoir que l'organisme précisément réagit aux stimuli autrement dit qu'il est excitable.

Le second groupe correspond aux facteurs héréditaires inscrits au niveau des gènes, sous la forme de séquences désoxyribonucléotidiques et qui font que d'une espèce à l'autre, les animaux sont différents à la fois dans leur morphologie et dans leur comportement. C'est à ce niveau également qu'il faut situer l'établissement de certains circuits nerveux innés, qui se trouvent à la base du comportement instinctif. Et, dans un grand nombre d'espèces animales, ces réactions instinctives constituent la majeure partie du comportement.

Mais parmi les êtres vivants, l'homme constitue de ce point de vue une espèce particulière en ce sens que son comportement est plus souvent conditionné par ce qu'il a acquis que par ce qu'il a hérité. Et avec ce facteur acquis, nous entrons dans le domaine proprement dit de la mémoire.

Trois processus sont à distinguer dans les opérations mnémoniques de la mémoire : la fixation, la rétention et l'évocation.

La fixation ou acquisition de l'information repose sur un ensemble plus ou moins complexe de circuits nerveux en contact avec les récepteurs périphériques. Tant que ces circuits persistent, la mémoire existe, mais une mémoire à court terme, se fixant en de brefs intervalles de temps. La question essentielle est de savoir comment on passe de la fixation à la rétention, c'est-à-dire le mécanisme d'après lequel l'information se trouve enregistrée, emmagasinée par le cerveau de façon durable et souvent permanente. Enfin, le problème de l'évocation ou rappel. A ce sujet, une hypothèse ingénieuse avait été faite autrefois par un des spécialistes de l'histologie du système nerveux, à savoir RAMON Y. CAJAL, d'après laquelle il y aurait formation de nouveaux contacts synaptiques à la suite des passages suffisamment répétés des courants nerveux. Mais cette éventualité, toute séduisante quelle soit et reprise par bien des auteurs, n'a jamais pu être prouvée. Il était inéluctable que ce problème allait être repensé, à la lumière d'une théorie de nos connaissances actuelles sur le fonctionnement biochimique des chromosomes et des gènes. La cellule vivante ne possède-t-elle pas, en effet, une mémoire biochimique dans la mesure où le code génétique inscrit dans la structure de l'ADN des gènes des chromosomes, peut être déchiffrée par transfert à l'ARN messager qui dirigera ensuite au niveau des ribosomes la synthèse des protéines conformément au modèle défini par l'hérédité.

Un rapprochement de ce genre avait déjà été effectué par KATZ et HALSTEAD en 1950. Un peu plus tard, vers 1959, HYDEN, à l'aide de techniques d'une ingéniosité et d'une minutie exceptionnelles a pu mettre en évidence non seulement l'augmentation de la concentration en acides nucléiques dans les neurones à la suite de stimulations répétées, mais de plus, des modifications de la composition en bases puriques et pyrimidiques de l'ARN dans le noyau vestibulaire de rats dressés à courir sur une corde tendue.

Ainsi donc, pourrait-on admettre que suivant ses caractéristiques électriques, l'influx nerveux serait capable, par des stimuli répétés, d'imposer des changements à l'ARN, lequel alors serait susceptible d'induire la synthèse d'une protéine nouvelle capable à son tour de sensibiliser le neurone à l'impulsion nerveuse qui lui a donné naissance.

Une autre série d'arguments expérimentaux qui seraient capables de militer dans le même sens correspond au fait qu'un certain nombre de substances chimiques que nous savons capables d'inhiber la synthèse de l'ARN messager comme la puromycine et l'actinomycine D dépriment également le fonctionnement de la mémoire en ce sens que des animaux traités par ces inhibiteurs ou bien apprennent plus lentement que les témoins, ou bien le dressage ayant déjà eu lieu, oublient plus vite ce qu'ils avaient déjà appris.

Enfin, nous mentionnerons une troisième série de travaux effectués sur des Planaires, animaux qui malgré leur système nerveux très rudimentaire, peuvent être dressés et conditionnés. Une planaire ayant été coupée en deux, les deux fragments sont susceptibles de se régénérer et, si l'animal avait été au préalable conditionné, la mémoire du conditionnement va se retrouver dans les deux fragments. Par contre, si au cours des phénomènes de régénération, les fragments sont mis à incuber avec une solution de ribonucléase, et, ainsi, perdent leur ARN, elles perdent aussi leur réponse conditionnée. Mieux encore, si des fragments de Planaires conditionnées servent à alimenter des individus neufs ces derniers sont capables d'acquérir le conditionnement ou l'acoutumance de façon plus rapide que les animaux témoins auxquels on aura fait ingérer des fragments provenant de Planaires non dressées.

Il va de soi que de telles expériences relativement spectaculaires ont été très discutées quant à leur interprétation et quant à leur méthodologie. Elles ont été reprises sur un autre plan par Georges UNGAR (1959, 1965) et ses collaborateurs qui se sont particulièrement attachés aux modifications des protéines capables d'apparaître dans le tissu nerveux en fonction de son activité. Ils admettent que ces protéines subiraient des changements réversibles de leur superstructure lorsque la stimulation est de courte durée et des changements irréversibles atteignant même leur structure primaire si les excitations sont prolongées ou répétées. Dans le même temps, on observerait l'augmentation de l'activité de l'enzyme protéolytique. Ce préambule acquis, G. UNGAR et ses collaborateurs ont travaillé dans 3 directions différentes.

Acquisition passive de l'accoutumance à la morphine :

En étudiant le mécanisme de l'accoutumance à la morphine, les auteurs ont pu créer de toutes pièces cette accoutumance chez des animaux qui n'avaient jamais été en contact avec la drogue, mais auxquels ils avaient administré un extrait de cerveaux prélevés sur des animaux qui avaient perdu leur sensibilité première à la morphine à la suite d'injections répétées. Les faits essentiels signalés par les auteurs eux-mêmes peuvent être présentés ainsi qu'il suit : " l'action analgésique de la morphine est considérablement réduite si l'animal a été traité quelques heures auparavant par des extraits de cerveaux prélevés sur des animaux accoutumés à la morphine.

Le degré de cette tolérance à la drogue dépend de la quantité de cerveaux administrée. L'effet d'une seule injection dure au moins une dizaine de jours ; l'injection d'extraits de cerveaux d'animaux normaux ou d'animaux ayant reçu d'autres substances (des barbituriques par exemple) est sans effet ". L'interprétation de telles expériences prête évidemment à discussion. Les hypothèses que l'on peut émettre se trouvent cependant quelque peu orientées par le fait que les résultats sont négatifs si on administre au préalable aux animaux des substances telles que l'actinomycine D qui inhibe la synthèse des protéines.

Transfert de l'accoutumance à des stimuli physiques.:

Il s'agit d'un phénomène d'accoutumance consistant en la perte d'une réaction innée à des stimuli répétés sans renforcement, c'est-à-dire qui ne sont pas accompagnés d'effets plaisants ou déplaisants. Ainsi, par exemple, nous disent encore G. UNGAR et ses collaborateurs (1965) un bruit soudain provoquera une réaction de sursaut, mais si l'on répète le bruit un nombre suffisant de fois, la réaction diminue graduellement et finira même par disparaître. Il semble que dans ces conditions, l'accoutumance ainsi comprise puisse être considérée comme une des formes les plus élémentaires de la mémoire. Par exemple, les auteurs ont créé chez des rats une accoutumance à un son répété toutes les cinq minutes pendant deux heures par jour. Au bout d'une moyenne de neuf jours, les réactions des animaux étaient

réduites à moins de 10 % de leur valeur primitive. Si à ce moment là les animaux sont sacrifiés et un extrait de leur cerveau injecté à des souris neuves, les résultats sont tout-à-fait spectaculaires. Dès les premiers tests, les animaux avaient perdu près de 50 % de leur réaction de sursaut alors que les animaux témoins injectés avec des extraits de cerveau de rats normaux se comportaient comme des animaux non traités.

Transfert du dressage au flux :

Le matériel mis en œuvre consistait dans une cage en forme de Y, à travers le plancher métallique de laquelle on peut faire passer un courant électrique. L'animal, placé dans le compartiment principal de la cage, était dressé à fuir le choc électrique en se réfugiant dans la branche éclairée. A raison de 20 tests par jour, les rats en 7 à 8 jours et les souris en 22 à 24 jours ont appris à fuir le choc électrique en s'échappant dans le bras éclairé de la cage. On sacrifie les animaux lorsqu'ils ont atteint le critère de 10 % d'erreurs ou même moins au cours de trois sessions d'essais consécutives. On constate alors que les souris ayant reçu l'extrait cérébral de ces rats dressés atteignent ce même critère après 136 ± 38 tests. Par contre, les témoins ayant reçu un extrait de cerveau normal ont eu besoin de 311 ± 132 tests pour compléter leur dressage.

Transfert d'évitement conditionné.

Il s'agit ici d'animaux recevant un stimulus conditionné (son ou lumière) suivi d'un stimulus inconditionné de choc électrique. Ce dernier peut être évité par les animaux s'ils franchissent une barrière pendant la période de cinq minutes qui précède le choc. Les résultats sont sensiblement analogues à ceux de l'expérimentation précédente. Les souris injectées avec l'extrait de cerveaux d'animaux conditionnés aux sons atteignant le critère après une moyenne de 76 ± 28 tests alors que les témoins ont besoin de 150 ± 36 tests pour terminer leur dressage.

Un point important dans la méthodologie des expériences précédentes est relatif au fait que toutes les injections ont été pratiquées par la voie intra péritonéale. Or, comme ne manquent pas de le faire remarquer UNGAR et ses collaborateurs il paraissait peu probable que les facteurs responsables de ce transfert biochimique qui vraisemblablement doivent ne se trouver dans le cerveau du donneur qu'à doses infinitésimales soient capables, malgré tous les obstacles dus au franchissement des membranes et à l'activité des systèmes enzymatiques, de poursuivre la route complexe capable de les mener chez le receveur de la cavité péritonéale jusqu'à son cerveau. Cependant, de telles expériences ont été confirmées par les résultats encore plus récents de BABICH et Coll. (1965). Mais il convient alors de souligner l'importance de l'intervalle de temps qui s'écoule entre le premier test et l'injection. UNGAR et Coll. (1967) admettraient que le cerveau de rats qui ont été soumis à un dressage ou simplement manipulés renferme des substances capables d'augmenter l'aptitude générale au dressage. Ces substances semblent instables et disparaissent 10 à 12 heures après l'injection. Les facteurs spécifiques au contraire paraissent plus stables, agissent plus lentement et ont des effets plus durables. Mais la question la plus importante est de savoir la structure chimique de ces deux types de substances capables d'accélérer le processus de dressage. Et, ici, il faut tenir compte de deux opinions qui se complètent plus qu'elles ne s'opposent. Pour BABICH et ses collaborateurs (1965), il s'agirait de molécules d'ARN. Pour UNGAR et ses collaborateurs relativement à leurs propres expériences ci-dessus mentionnées (1967), il s'agirait au contraire de peptides de poids moléculaire peu élevé et non sensibles à l'action de la ribonucléase. Quant à l'interprétation d'ensemble, nous pouvons, en suivant toujours de très près UNGAR et ses collaborateurs (1967), admettre avec ces auteurs que l'impulsion fixatrice donnerait naissance à un fragment protéinique et c'est ce fragment qui contiendrait l'information absorbée par les neurones qui ont été parcouru par cette impulsion. Ce fragment protéinique qui résulte probablement d'une action enzymatique disparaîtrait lui-même rapidement du système nerveux sans l'existence d'un mécanisme de replication. Ce phénomène de replication s'opèrerait probablement par l'intermédiaire de l'ARN. Ce fragment peptidique, nouvellement détaché, pourrait agir par les processus aujourd'hui bien connus d'induction ou de répression. Mais quelle que soit la façon dont la molécule-code se reproduit, elle pourra désormais marquer les neurones appartenant à un certain circuit, et c'est ce circuit qui, chaque fois

que le stimulus original se reproduira, pourra être déclenché et servira de substratum aux phénomènes de mémoire correspondants.

Si on fixe par extrapolation avec un certain nombre d'auteurs le nombre de neurones du cerveau humain à 10^{10} , eux-mêmes capables d'emmagasiner 10^{15} unités d'information au cours d'une vie, on peut affirmer que le nombre possible de combinaisons offertes par la séquence des acides aminés dans les protéines est plus que suffisant pour servir de code à toutes les complexités de la pensée humaine.

Une autre façon, non moins originale, de considérer les phénomènes de mémoire sous l'angle biochimique correspond à la manière dont Bernard HALPERN (1967) a présenté récemment un élément cellulaire bien connu depuis plus d'un siècle puisque la première description en revient à Max SCHULTZ (1865) le lymphocyte.

Après avoir souligné le fait que la disproportion entre le noyau et le cytoplasme du lymphocyte est sans pareil dans tout notre organisme, HALPERN (1967) souligne que l'une des fonctions essentielles du lymphocyte correspond à une accumulation et un stockage de matériel mnésique. C'est grâce à ce volumineux noyau dit HALPERN (1967) que les lymphocytes conservent codés sous la forme bien entendu de séquences désoxyribonucléotidiques non seulement les informations transmises par voie génétique comme il en est pour toute cellule, mais encore le souvenir des expériences immunologiques vécues.

" Le lymphocyte est le type de la cellule à mémoire. Cette mémoire est liée aux réactions immunologiques et l'immunité, mémoire immunologique, dure toute la vie ; et l'auteur de citer en exemple de cette mémoire les vaccinations et les injections de rappel qui augmentent le nombre de cellules capables de reconnaître l'antigène ".

On peut se demander alors pourquoi pendant si longtemps cet élément, le lymphocyte, était resté en quelque sorte, dans l'ombre. C'est que pendant longtemps on avait admis que le lymphocyte ne vivait que 4 à 5 jours et qu'il ne se divisait pas. De tels phénomènes étaient évidemment incompatibles avec la notion de mémoire. Mais les choses en vont, semble-t-il, différemment. En effet, des travaux récents ont montré que si certains

lymphocytes ne vivaient effectivement que 4 à 5 jours, d'autres persistaient pendant des mois et des années, et certains même peut-être aussi longtemps que l'individu lui-même.

Mais nous considérons le cas général des lymphocytes qui meurent sans jamais avoir été capables de se diviser, ce qui est le propre du lymphocyte né du lymphoblaste. Deux perspectives doivent être alors envisagées : d'une part, avant de mourir, le lymphocyte va libérer ses nucléoprotéines ; celles-ci seront récupérées par les cellules avoisinantes qui doivent prendre la relève. C'est un véritable transfert des informations acquises par une cellule à d'autres cellules qui ne la possédaient pas.

D'autre part, s'il est bien exact, répétons le, que le lymphocyte, né du lymphoblaste, est incapable de se diviser, par contre, sous l'action de certains facteurs, il serait susceptible de se dé-différencier et de prendre la forme d'autres cellules qui, si elles ressemblent beaucoup au lymphoblaste primitif, sont capables, elles, de se diviser. C'est le phénomène de la blastogénèse. On dit alors que le lymphocyte cellule " réprimée " comme beaucoup d'autres cellules de l'organisme, a subi une " dé-répression ", la dérépression correspondant à l'activation de gènes (autrement dit de séquences désoxyribonucléotidiques) qui ne s'étaient pas exprimée . Cette " dérépression " se fait notamment sous l'impulsion de certaines substances dites blastogénétiques ; antigènes de greffe, allergènes, médicaments divers, qui ont donné lieu notamment entre les mains d'HALPERN et de ses collaborateurs, à la mise au point du test de transformation lymphoblastique ou T.T.L. Il s'agit de cultures de lymphocytes et de l'étude de leur transformation lymphoblastique sous l'effet d'un antigène. Ce test, qui peut être précieux comme diagnostic biologique de certaines allergies médicamenteuses (notamment vis à vis de la pénicilline) et de certains modes d'allergies tissulaires ne relevant jusqu'à présent d'aucun critère biologique pourrait être également considéré sous l'angle qui nous intéresse ici comme une preuve de la mémoire des lymphoblastes.

Nous clôturerons ce chapitre par la citation de deux exemples complémentaires qui sont les suivants :

En 1961, FISHMAN, avait montré que l'acide ribonucléique (ARN) extrait des macrophages préalablement exposés à l'action de l'antigène, provoque la formation d'anticorps dans les ganglions

lymphatiques. L'étude de ce phénomène important a été reprise par E.P. COHEN en 1967 et la discussion a porté essentiellement sur la nature de la substance active dans le matériel provenant des macrophages. En effet, ce matériel pourrait renfermer en plus de l'ARN une petite quantité d'antigène et dans ce cas, il s'agirait de la reconnaissance par les lymphocytes des animaux non immunisés, soit de la séquence des bases de l'ARN, soit de l'antigène : ou bien 2ème hypothèse, l'extrait proviendrait moins des macrophages que des lymphocytes et correspondrait à l'ARN messenger. Dans ce cas, on peut supposer un transfert de l'ARN messenger de lymphocyte à lymphocyte. Mais, dans toutes ces éventualités et ce sera notre conclusion, on peut affirmer que la " mémoire " des cellules envisagées est évidemment d'ordre strictement biochimique.

C H A P I T R E I I I

THERAPEUTIQUE MEDICAMENTEUSE ET HORMONALE

(Interprétation chimique de quelques médications)



En introduction à ce chapitre nous rappellerons brièvement les faits bien connus relatifs à certains antibiotiques ou substances apparentées : Actinomycine D, Chloramphénicol et Puromycine, et que l'on peut schématiser ainsi qu'il suit :

1) L'Actinomycine D se combine à l'ADN au niveau de la guanine et empêche l'ADN polymérase d'agir. Une cellule traitée par l'actinomycine D ne synthétise plus d'ARN messager et peu à peu ses ribosomes disparaissent.

2) Le Chloramphénicol inhibe la synthèse protéique chez les microorganismes, mais cette action ne se retrouve pas au niveau des cellules animales. Cette substance en effet agit en empêchant la fixation sur les ribosomes d'ARN messager. Chez les microorganismes où la vie de l'ARN messager est extrêmement brève, il en résulte un arrêt de la croissance microbienne. Au niveau de la cellule animale où la durée de l'ARN messager est beaucoup plus considérable, les ribosomes possèdent déjà leur ARN (m) et aux doses correspondantes, les effets se trouvent très différents.

3) La Puromycine empêche la fixation de l'ARN de transfert sur les ribosomes. Dans ces conditions, la synthèse protéinique déjà commencée au niveau de ces organites se trouve stoppée et ce sont des chaînes peptidiques incomplètes qui se trouvent libérées dans le cytoplasme de la cellule.

Ainsi pour ces trois substances deux conclusions plus manifestes sont, nous semble-t-il, à dégager :

a) Le rôle joué par ces drogues sur le plan de la biosynthèse des protéines est susceptible de rendre compte dans une large mesure du mécanisme de leurs activités thérapeutiques.

b) Mieux que cela encore si l'on peut dire : les points d'impact de ces substances avec les différentes étapes du mécanisme de la biosynthèse des protéines sont tellement bien précisés et

et établis que ces substances peuvent jouer le rôle de réactifs capables de dévoiler à leur tour les interférences existant entre l'action de tel ou tel facteur physicochimique et telle ou telle modification du biochimisme de l'organisme. Déjà, il y a plus d'un siècle, pour l'atropine agissant au niveau des terminaisons du nerf vague ou pour la nicotine intervenant au niveau des ganglions du système neurovégétatif, Claude Bernard avait prononcé un nom qui fit fortune, celui de "bistouris chimiques". Et cependant, si la finesse de dissection de ces instruments cliniques était, évidemment, supérieure à celle d'un instrument mécanique, si bien affûté soit-il, il ne s'agissait que d'intervalles situés entre éléments anatomiques. Que ne pourrait-on dire aujourd'hui de cette nouvelle catégorie de réactifs qui agissent au sein même des organites de la cellule et aux niveaux les plus précis qui soient, qu'il s'agisse de la transcription d'une des branches de l'ADN génique ou encore à la surface des ribosomes.

Quoiqu'il en soit il nous reste à montrer comment grâce souvent à l'emploi de ces substances ou grâce à la méthode des produits isotopiques, il a pu être possible d'établir récemment qu'un grand nombre de substances physiologiques ou médicamenteuses agissaient par interférence avec la biosynthèse des protéines et c'est ce que nous allons nous efforcer de faire en choisissant quatre exemples :

- a) Deux antibiotiques (Rufocromomycine et Rubidomycine)
- b) et c) Deux séries hormonales (Testostérone et Glycocorticoïdes)
- d) Une vitamine, la vitamine D.

a) Rufocromomycine et Rubidomycine -

La Rufocromomycine est un antibiotique extrait de cultures d'une nouvelle espèce de Streptomyces, le Streptomyces rufochromogènes. A en juger par les données expérimentales acquises et les essais cliniques entrepris jusqu'ici, la Rufocromomycine s'est révélée intéressante à plusieurs titres dans certaines tumeurs solides et diverses formes de réticulopathies et d'hémo-pathies malignes. Le mécanisme exact de l'action de la rufocromomycine n'a pas encore été clairement élucidé, mais il paraît déjà avéré, à la suite des travaux de MARAL et GANTER (1962-1966) qu'il s'agit bien d'un mitostatique. En bref, le produit

diminue le nombre des mitoses et ce phénomène a pu être mis en évidence en étudiant l'indice mitotique à partir de cellules d'EHR- LICH provenant de souris ascitiques traitées, 6 jours après la greffe néoplasique, par le 5 278 R.P. En outre, dans ces cellules colorées par la méthode de FEULGEN (1924) ou par le MAY-GRUNWALD- GIEMSA, on décèle l'existence de nombreuses anomalies chromosomiques : épaississements, déformations, cassures.

D'autre part, l'étude et microscopie de fluorescence, après coloration à l'orangé d'acridine, de cellules d'EHR- LICH recueillies chez des souris ayant reçu une dose unique de 5 278 R.P. indique que leur teneur en acides désoxyribonucléique (DNA) et ribonucléique (RNA) est abaissée. Enfin, l'examen autoradiographique, de cultures de cellules K.B. révèle que la Rufocromomycine, tout comme l'Actinomycine D, inhibe fortement l'incorporation de la thymidine tritiée dans le DNA cellulaire. Il semble donc que le 5 278 R.P. intervient dans le métabolisme des acides nucléiques et entrave particulièrement la synthèse de l'acide désoxyribonucléique.

La Rubidomycine est un antibiotique d'utilisation relativement récente appartenant au groupe des anthracyclines et obtenu à partir d'une culture de plusieurs souches de streptomycines ceruleo rubidus. Ses propriétés anti-mitotiques ont été mises en évidence en 1962. La Rubidomycine est active sur de nombreuses tumeurs expérimentales notamment : sarcome 180 et, tumeur ascitique d'Ehrlich. Or, les travaux, tant français qu'italiens bien que divergeants sur la localisation intra-cellulaire du produit admettent qu'il altère la synthèse de l'ADN soit par fixation directe, soit par fixation sur les mécanismes enzymatiques nécessaires à sa polymérisation.

b) La Testostérone -

Les recherches récentes de SHUTSUNG LIAO (1967) du laboratoire Ben May à l'Université de Chicago, ont élucidé en grande partie le mécanisme d'action biochimique de la testostérone. Nous les rapportons ici d'après le compte rendu de la Semaine des Hôpitaux (Suppl. d'information du 28 Mai 1967).

Depuis une trentaine d'années environ, il était connu que la croissance et le fonctionnement des glandes sexuelles

secondaires mâles, telle que la prostate, sont sous la dépendance du taux d'androgènes circulants. Malgré de nombreux efforts il avait été impossible de préciser par quel mécanisme moléculaire les androgènes stimulaient la croissance des tissus de l'organe cible.

Plus récemment il avait été démontré que les androgènes, comme d'ailleurs d'autres types d'hormones, stimulent la synthèse protéique dans les cellules cibles, cette augmentation de la synthèse protéique se faisant par l'intermédiaire d'une synthèse accrue d'ARN dans les dites cellules. Mais le type d'ARN synthétisé n'avait jamais été précisé.

Dans cette nouvelle étude, des rats furent castrés. Un certain nombre de ceux-ci reçurent une injection de testostérone. La prostate fut ensuite prélevée sur les deux groupes de rats. Les noyaux cellulaires furent isolés par différentes techniques de centrifugation.

En utilisant des nucléotides marqués (précurseurs d'ARN) l'auteur put démontrer que les noyaux des cellules prostatiques des rats traités par la testostérone produisent beaucoup plus d'ARN que les noyaux cellulaires des rats castrés non traités.

Pour préciser le type d'ARN produit après administration de testostérone, l'auteur utilisa l'Actinomycine D, antibiotique qui bloque la synthèse d'ARN nucléolaire (ARN qui informe les ribosomes) sans affecter la synthèse des autres types d'ARN. Lorsque la quantité optimum d'Actinomycine D fut injectée aux rats ou ajoutée aux noyaux cellulaires, ceux-ci ne produisaient plus la grande quantité d'ARN après stimulation par la testostérone. Ceci démontrait que l'ARN produit après stimulation par la testostérone consiste en ARN nucléolaire ou ribosomale.

L'ARN nucléolaire est produit dans les nucléoles du noyau. Ceux-ci sont intimement associés à la chromatine, matériel génétique constitué d'ADN qui sert de modèle ("template") à la synthèse de tous les types d'ARN.

Cette expérience suggère la séquence d'évènements suivants après stimulation de la cellule cible par la testostérone :

la testostérone stimule une toute petite partie de la chromatine (moins de 1 %) qui sert alors de modèle à la synthèse d'ARN nucléolaire ; ceci entraîne une élévation franche et sélective de l'ARN nucléolaire : de nouveaux ribosomes sont alors construits dans le noyau à partir de l'ARN nucléolaire. Les nouveaux ribosomes migrent dans le cytoplasme où ils entraînent la synthèse de protéines cellulaires assurant la croissance et la multiplication cellulaires.

D'autres expériences confirmèrent la nature nucléolaire ou ribosomale de cet ARN. Les bases qui constituent l'ARN produite par les noyaux cellulaires de la prostate de rats castrés et traités par la testostérone furent analysées. Les différents rapports des bases entre elles furent ceux que l'on trouve dans l'ARN ribosomal et non ceux des autres ARN.

D'autres expériences utilisèrent le fait que les filaments d'ARN complémentaires (c'est-à-dire dont les bases sont complémentaires deux à deux) constituent une double hélice qui résiste à l'action de la ribonucléase, enzyme qui normalement hydrolyse l'ARN. Dans cette technique un filament d'ARN synthétique complémentaire d'un type choisi d'ARN, est préparé à l'aide d'enzymes et de bases. On fait ensuite un test de complémentarité avec l'ARN à identifier. Grâce à ce test, l'auteur put affirmer que l'ARN synthétisé après stimulation par la testostérone est de l'ARN ribosomal.

Des auteurs avaient montré que la testostérone augmentait la capacité des ribosomes à synthétiser des protéines. On en avait conclu que la testostérone augmente le pourcentage de ribosomes fonctionnels c'est-à-dire le nombre de ribosomes ayant fixé un filament d'ARN messager. D'autres avaient interprété les résultats comme preuve que la testostérone augmente électivement la production d'ARN messager.

En fait, la meilleure explication est que chaque ribosome nouvellement formé dans le noyau " cueille " un filament d'ARN messager sur l'ADN avant de quitter le noyau. Le nombre total de ribosomes avec l'ARN messager dans le cytoplasme serait ainsi augmenté, ce qui, par conséquent augmenterait la synthèse protéique.

Si c'est vraiment le cas, cette découverte serait un argument solide en faveur d'une hypothèse récente qui suppose que les ribosomes ont plusieurs fonctions : en cueillant l'ARN messager dans le noyau.

- 1 - Ils détachent l'ARN de l'ADN mettant ainsi à nu l'ADN pour la synthèse d'ARN neuf.
- 2 - Ils servent de véhicule à l'ARN messager pour son passage du noyau dans le cytoplasme.
- 3 - Ils protègent l'ARN messager de l'action hydrolysante des nucléases cellulaires.

De nouvelles recherches sont en cours afin de découvrir pourquoi la testostérone active de façon élective une petite partie de la chromatine pour ne donner que de l'ARN nucléolaire.

Quoi qu'il en soit, la découverte du mécanisme exact de l'action des hormones est un des grands domaines de recherche des sciences médicales et biologiques parce que ces mécanismes sont à la base d'un des principaux moyens d'homéostasie du corps et parce que son dérèglement est en cause dans un grand nombre de maladies et en particulier dans certains cancers.

c) Les Glycocorticoïdes -

L'interprétation du mode d'action des glycocorticoïdes nous oblige à rappeler en quelques mots les notions essentielles relatives aux acides aminés glycoformateurs et à la néoglycogénèse.

Les monopectides une fois désaminés, soit directement par désamination oxydative ou non oxydative, soit plus généralement par transamination, mais ayant donné, de toutes façons des acides cétones et des acides cétoniques. Que vont devenir ces acides cétones ainsi formés ?

Le sort de ces acides cétones va être assez différent suivant la nature des A.A. dont ils proviennent et on peut de ce point de vue les répartir en 3 catégories :

- 1 - Les A.A. glycoformateurs
- 2 - Les A.A. cétogènes
- 3 - Les A.A. subissant un catabolisme particulier.

Examinons-les :

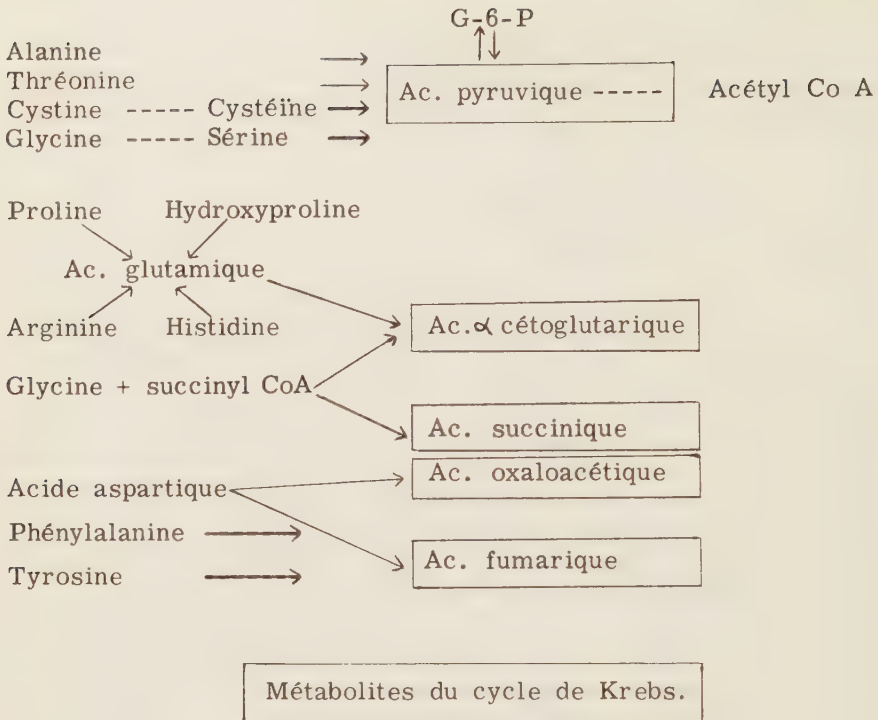
A.A. Glycoformateurs :

Ce sont les A.A. qui, ingérés par les diabétiques, provoquent une augmentation de glucose urinaire. Tous ces A.A. sont en même temps anticétogènes, c'est-à-dire que leur ingestion, comme celle du glucose, diminue l'élimination des corps cétoniques chez le diabétique acidotique.

Chez les individus normaux il est bien entendu que le glucose formé par ces A.A. glycoformateurs est, non pas éliminé, mais bien métabolisé. Aujourd'hui, d'ailleurs la confirmation a pu être apportée par les méthodes isotopiques.

Ces A.A. glycoformateurs sont nombreux :

glycocolle
 alanine
 sérine, la thréonine
 cystine - cystéine
 ac. aspartique - ac. glutamique
 la proline et l'hydroxyproline
 l'ornithine et l'arginine.



Il est certain que la chaîne hydrocarbonée (acide pyruvique) libérée après désamination d'un A.A. simple tel l'alanine est susceptible de donner lieu à la production de glucose.

De même pour les autres A.A. qui par désamination fournissent des composés intermédiaires de la dégradation des glucides :

acide glutamique	----->	ac. α céto glutarique
acide aspartique	----->	ac. oxaloacétique.

Toutes ces substances peuvent être considérées suivant le cas, autant comme des catabolites que des précurseurs du glucose.

Cela est particulièrement vrai pour l'acide pyruvique qui est non seulement un catabolite du glucose mais également la matière première idéale susceptible d'aboutir au glucose-

6-phosphate, en remontant cette fois la chaîne des réactions. L'acide pyruvique est d'ailleurs plus que cela : c'est un corps commun aux 3 métabolismes, un point de jonction très fréquent entre eux trois.

La néoglycogénèse .

La transformation des A.A. en glucose s'effectue de façon presque exclusive au niveau du foie. Les protides hépatiques eux-mêmes sont les premiers transformés. Il a été remarqué que les enclaves protidiques de la cellule hépatique disparaissent rapidement dans les premiers jours d'une période de jeûne. Après 2 jours de jeûne le foie a déjà perdu 20 % de ses réserves protidiques, tandis que celles des muscles et des tissus périphériques ne se sont amenuisées que de 4 %. Au total, le foie peut arriver à perdre 40 % de ses propres protéines. Il effectue également la conversion des réserves périphériques. Mais ces réserves ne lui sont pas fournies à l'état brut. Elles sont au préalable scindées en A.A. et transformées sous cette forme au niveau du foie qui effectue alors la néoglycogénèse. Cette mobilisation, ce transfert et cette transformation des protéines en sucres sont sous la dépendance d'un système hormonal représenté par la thyroïde peut-être, mais surtout par le cortex surrénal : les glycocorticoïdes.

Cette néoglycogénèse est importante : en effet, si l'on additionne nos réserves glucidiques (hépatiques et musculaires) à la quantité de sucre des liquides circulants, on ne dépasse pas 370 g. capables de fournir simplement 1 500 calories, soit la moitié de ce qui nous est nécessaire en 24 h. Dès la 12ème heure en cas de jeûne, l'énergie des combustions internes doit être fournie par les protides et les lipides. C'est alors qu'un animal décapsulé meurt en état d'hypoglycémie puisque faute de 11 oxystéroïdes, la néoglycogénèse n'est plus possible. Et il en va de même en cas de maladie d'Addison caractérisée.

Cependant, il ne faut pas que ce phénomène de néoglycogénèse dépasse certaines limites, sans quoi il entraîne - hyperaminoacidémie et surtout hyperazotémie, qui peut être fâcheuse pour l'organisme.

Il se trouve sous la dépendance des hormones dites : glucocorticoïdes ou encore hormones " sucrées " d'Albright ; hormones du cortex surrénal, hormones stéroïdes portant un -OH sur le sommet numéroté 11 et entrant, par conséquent dans le groupe des 11 hydroxy-stéroïdes.

Les deux plus importantes sont :

- La Corticostérone
- Le Cortisol.

Le Cortisol est 3 fois plus actif que la corticostérone, sur le métabolisme glucidoprotidique et sa sécrétion est 10 fois plus élevée (20 mg et 2 mg/24h/homme.).

On entend souvent affirmer que la glycolyse (voie d'Embden-Meyerhof)est entièrement réversible et qu'il en est de même pour la glycogénolyse.

Si l'on ne tient compte que des points de départ et des points d'arrivée dans l'organisme, cela est exact.

Mais si l'on examine le problème étape par étape on s'aperçoit qu'il y a 4 étapes qui ne sont pas directement réversibles en ce sens que l'organisme est obligé de faire appel à des moyens différents suivant que la réaction marche dans le sens de la dégradation ou dans celui de la synthèse.

Tout d'abord la glycolyse.

La réaction $F - 6 - P \longrightarrow F1 - 6 P$ est catalysée par la phosphofructokinase alors que la réaction inverse est catalysée par la fructose 1 - 6 diphosphatase.

De même la réaction acide phosphoenolpyruvique $\longrightarrow$ pyruvate est catalysée par la pyruvatekinase, alors que la réaction inverse exige la pyruvate carboxylase ou oxaloacétate de carboxylase et la phosphoénol pyruvate carboxykinase.
(L'acide oxaloacétique apparaît donc ainsi comme la plaque tournante de la néoglycogénèse).

De même pour la glycogénolyse :

La réaction glycogène $\longrightarrow G - 1 - P$ est catalysée par les phosphorylases. Alors que la réaction inverse exige le :

U.D.P.G. pyrophosphorylase et la glycogène synthétase.

Et encore la réaction :

glucose $\rightarrow$ G - 6 - P catalysée par la glucokinase et la hexokinase. Alors que la réaction inverse est catalysée par la glucose - 6 - phosphatase.

Ainsi, en 4 points différents, les enzymes de la dégradation sont différentes de celles de la synthèse mais dans l'ensemble, la réversibilité reste possible.

Quel est donc le mode d'action biochimique de ces hormones ?

Sous l'influence du cortisol aussi bien in vitro que in vivo on constate : une activation des systèmes enzymatiques suivants :

pyruvate carboxylase
et phosphoénolpyruvate carboxykinase
fructose 1 - 6 diphosphatase
glucose - 6 - phosphatase
glycogène synthétase

et une diminution d'activité pour :

la phosphofructokinase
et la pyruvate décarboxylase.

Peut-on préciser davantage ce mécanisme ?

- par l'effet allostérique de petites molécules peuvent activer ou inhiber spécifiquement une enzyme et aussi par activation de la synthèse. Ainsi l'actinomycine qui bloque la synthèse de l'ARN messager empêche l'activation par le cortisol des enzymes de la néoglycogénèse. Ainsi, le cortisol se comporterait comme un véritable " inducteur " de la synthèse de ces enzymes.

De façon plus précise et plus récente encore, il convient de citer ici les expériences de C. KIDSON (1967).

Celles-ci ont été effectuées sur des suspensions des cellules lymphoïdes de lapin et de rat. La synthèse de l'ARN a été mesurée par l'incorporation de l'uridine- H^3 , celle des protéines

par l'incorporation soit de H^3 ou C^{14} - leucine, soit de H^3 ou C^{14} - phényl-alanine. Dans certaines expériences, pour évaluer la vitesse de pénétration du cortisol dans les cellules, du cortisol - H^3 - succinate était ajouté au milieu de suspension.

L'action de l'hormone s'est révélée extrêmement rapide et complexe. L'auteur a noté en effet :

- 1 - En quelques secondes, après la pénétration du cortisol une diminution nette de la formation de l'ARN à synthèse rapide.
- 2 - Une période de latence de plusieurs minutes en ce qui concerne la synthèse protéinique.
- 3 - Une " poussée " d'une synthèse protéinique accélérée atteignant sa valeur maximale en quinze à vingt minutes.
- 4 - Une diminution de la protéinogénèse après son accélération transitoire.

La surrénalectomie des animaux donneurs des cellules étudiées accentue l'effet du cortisol.

L'augmentation transitoire de la synthèse protéinique permet d'envisager que l'ARN à formation rapide renferme, en plus de l'ARN messager, de l'ARN à fonction régulatrice. Il est également possible qu'une partie des protéines formées au cours de la poussée transitoire de la synthèse protéinique soit elle-même un répresseur. C. KIDSON (1967) donne deux modèles hypothétiques fondés sur ces deux éventualités pour expliquer l'effet du cortisol. Ce qui semble le mieux établi est l'action régulatrice extrêmement rapide de cette hormone sur la néoformation de l'ARN et des protéines.

d) La Vitamine D -

Ces dernières années, nos connaissances ont pu se préciser sur le mécanisme intime de l'absorption intestinale du calcium grâce surtout à l'emploi du calcium radio-actif et à la mise en jeu des " anses intestinales isolées et retournées ". Presque tous les sels calciques se trouvant dissociés et solubilisés par l'acidité gastrique, la forme d'apport n'a pas une importance primordiale. Par contre, une hypochlorydrie marquée est susceptible de diminuer l'absorption calcique intestinale.

Le calcium est absorbé selon deux processus distincts :

a) le transport passif est celui qui correspond aux ions calcium en milieu acide. Cette absorption se trouve donc limitée à la partie haute de l'intestin grêle. Elle se trouve entravée par tous les facteurs capables de diminuer l'acidité à ce niveau.

b) le transport actif va mettre en jeu des phénomènes complexes de phosphorylation oxydative capable de s'étendre à toute la longueur du grêle. C'est ici que la présence de vitamine D semble indispensable. A la diffusion simple qui serait peut-être capable d'assurer les besoins de base d'un organisme en équilibre va donc se surajouter un processus actif indispensable pour assurer les exigences propres à certaines circonstances physiologiques ou pathologiques et élever au maximum le coefficient d'absorption en cas d'apport alimentaire réduit. C'est au niveau de ce transport actif que pourrait agir le facteur endocrinien soit dans un sens favorable (parathormone, hormones sexuelles) soit dans un sens défavorable (les glucocorticoïdes); mais l'intérêt du problème se concentre toujours sur le mécanisme d'action de la vitamine D. La vitamine D, dérivé stérolique que l'organisme est susceptible de former à partir du cholestérol si les téguements reçoivent une dose suffisante de rayons ultra-violets, ou bien les vitamines D d'origine alimentaire ou médicamenteuse ont une action capitale sur l'absorption du calcium à travers la paroi digestive. Les jeunes enfants et les jeunes animaux, lorsqu'il sont privés de vitamine D arrivent à perdre plus de calcium par les selles qu'ils n'en ingèrent. L'influence de la vitamine D passe, si l'on peut dire, par son maximum lorsque le sujet est en voie de croissance ou lorsque la ration est pauvre en calcium. C'est ainsi que les besoins en vitamine D sont évidents chez le sujet rachitique ou ostéomalacique et moins nets chez l'adulte normal. Cette action favorisante sur l'absorption s'exerce principalement au niveau du tiers supérieur de l'intestin, mais non pas de façon exclusive, puisque précisément l'un des effets de la vitamine D semble être d'augmenter l'étendue de la surface intestinale susceptible d'absorber le calcium. Les poisons de l'équipement enzymatique annihile l'action de la vitamine D. Les fortes doses de vitamine agissent beaucoup plus vite et de façon beaucoup plus nette que les autres. Bien des hypothèses ont été faites pour rendre compte de l'action de la vitamine D : pour les uns il y aurait augmentation de l'acidité du contenu intestinal; pour les

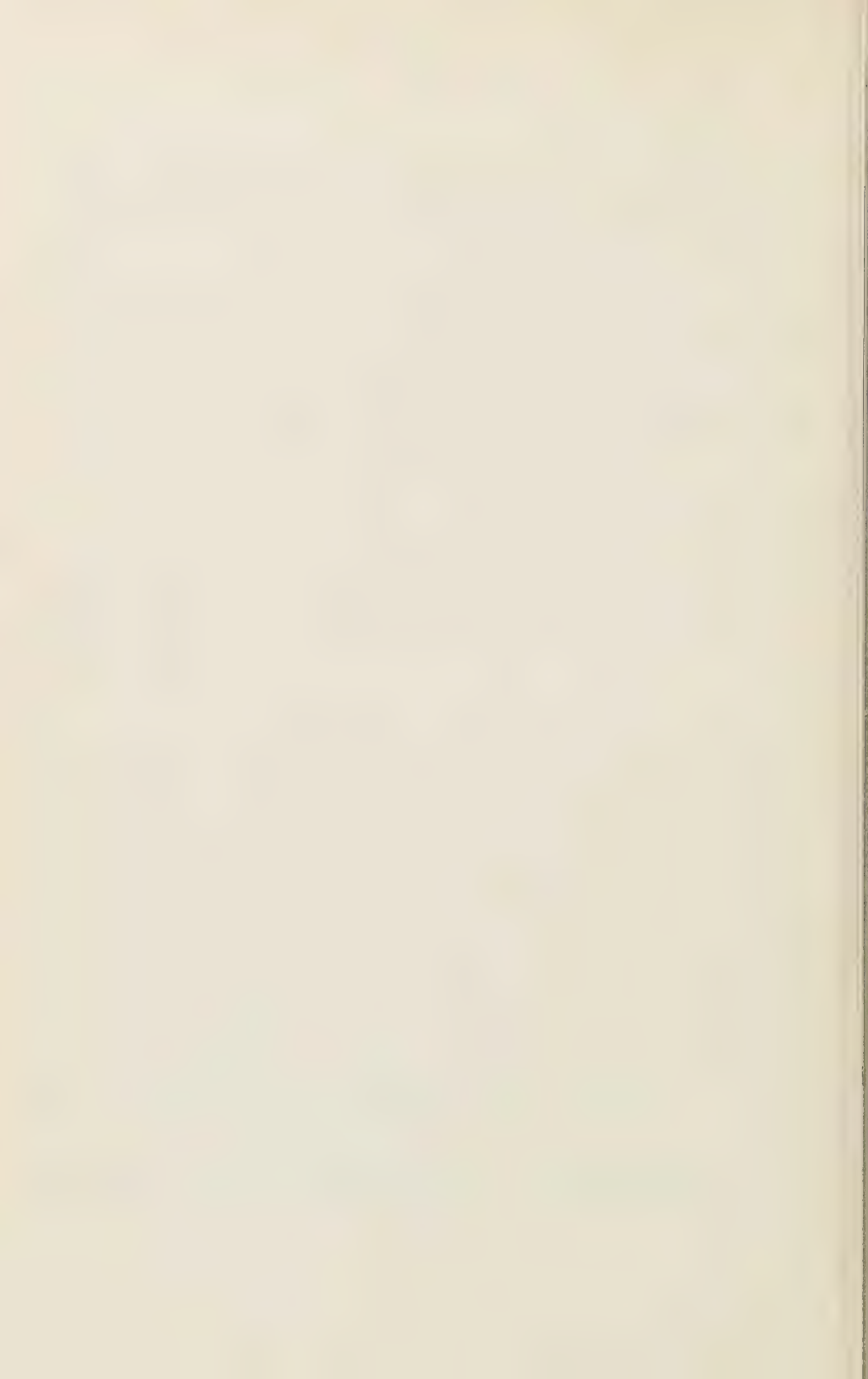
autres augmentation de la teneur en acide citrique, les ions citriques étant alors capables de complexer les ions calciques et de faciliter leur passage au travers de la muqueuse. Mais pour d'autres auteurs l'énergie du transport actif du calcium étant puisée dans une réaction de phosphorylation oxydative s'exerçant évidemment au niveau des cellules intestinales, il était admis, de façon assez générale, que la vitamine D renforçait ce système de phosphorylation. Cependant, des expériences assez récentes (HARRISSON, 1961) ont pu montrer que même lorsque ce système de phosphorylation oxydative était bloqué, la vitamine D n'agissait pas moins sur la vitesse de transport du calcium à travers la muqueuse intestinale. On est donc en droit d'affirmer qu'il existe une certaine indépendance entre l'action de la vitamine D sur le passage du calcium à travers la muqueuse, et le système de phosphorylation oxydative qui s'y trouverait également lié. La vitamine D paraît donc agir par augmentation proprement dite de la perméabilité de la membrane intestinale au passage du calcium. Et cette augmentation paraît tout à fait spécifique car la même expérimentation effectuée, non pas avec du calcium mais avec du sodium radio-actif montre que la vitamine D ne possède aucune influence sur la vitamine de transport du sodium à travers la muqueuse intestinale.

Le mécanisme par lequel la vitamine D est capable de favoriser la pénétration du calcium à travers la membrane des cellules intestinales reste donc quelque peu mystérieux. Aussi convient-il de citer ici, l'expérience de Zully CHARNOWSKA, MISZTAL et LUCA. Au cours de leurs recherches, ces auteurs ont travaillé sur des rats carencés en vitamine D et alimentés avec des préparations de calcium radio-actif. Si la moitié des animaux en expérience reçoivent 2000 unités de vitamine D on s'aperçoit comme il fallait s'y attendre, que l'absorption intestinale de calcium a été multipliée par deux. Mais, si, aux animaux recevant simultanément la vitamine D et le calcium radioactif, on administre de l'Actinomycine deux heures avant l'injection de vitamine D l'action de celle-ci se trouve complètement inhibée alors qu'elle persiste si l'Actinomycine n'est injectée que dix heures après la vitamine. De même, chez des rats où la stimulation de l'absorption intestinale était inhibée par l'Actinomycine, l'injection d'hormone parathyroïdienne s'est montrée inefficace.

Les auteurs arrivent donc à la conclusion suivante: la vitamine D n'agit pas directement sur le métabolisme du calcium mais stimule la biosynthèse d'une protéine probablement de

nature enzymatique qui va à son tour catalyser le transport du calcium et cette hypothèse serait bien en concordance avec l'intervalle qui existe entre l'injection de la vitamine D et la réponse physiologique qu'elle suscite.

Dans le même sens D. H. W. NORMANN, après avoir étudié l'absorption du calcium chez le poulet rachitique arrive à des conclusions très analogues lorsqu'il déclare : " Si on ne peut affirmer que le rôle de la vitamine D est d'induire la production d'un système enzymatique, de toute façon, il est certain que la stimulation de l'absorption calcique par la vitamine D exige au moins l'intégrité du système synthétisant l'ARN ".



RESUME et CONCLUSIONS

Arrivé au terme de cette revue générale qui s'est décomposée en deux parties :

- Rappel des faits essentiels relatifs à la biosynthèse des protéines.
- Examen de quelques unes des conséquences qui en découlent dans l'interprétation de quelques hémoglobinopathies, de la mémoire et de quelques médications.

(Exemples qui pourraient être multipliés dans bien d'autres domaines, notamment l'action des virus, l'antibiorésistance, l'administration en thérapeutique d'A.D.N. et combien d'autres).

il nous semble que nous sommes ici en présence de quelques uns des aspects les plus typiques de ce que l'on désigne aujourd'hui sous le nom de biochimie moléculaire.

Ces termes évoquent d'emblée pour nous cette molécule fantastique qu'est l'A.D.N. génétique des chromosomes et en particulier des chromosomes humains.

- fantastique par son poids de 2 000 millions
- fantastique par ses dimensions qui sous sa forme étirée atteignent 2 cm.

- fantastique par le nombre de ses séquences qui sont autant de gènes :

gènes opérateurs
gènes de structure
ou gènes répresseurs

de telle sorte que, à la suite de cette macromolécule type qui est en même temps une macromolécule souche, il nous est possible de traduire ou mieux, d'exprimer en langage moléculaire les phénomènes biologiques les plus variés.

Ainsi ,

Au ballet fantasmagorique des chromosomes au moment de la mitose nous substituerons la séparation et l'autoreplication des chaînes hélicoïdales de l'ADN. Dans les alvéoles aussi nombreuses qu'élégantes que nous révèle la microscopie électronique au niveau des mitochondries, nous marquerons l'emplacement des enzymes du cycle de Krebs avec la production de l'ATP aux dépens des phosphorylations oxydatives.

- Au niveau des ribosomes ceinturés et disposés en file sous l'influence de l'ARN messager nous parlerons de deuxième transcription du code génétique et de la dispositions des acides aminés suivant une séquence identique à celle commandée par le génome.
- Au niveau des lysosomes ; ces derniers venus des organismes cytoplasmiques, nous placerons le service de voirie de la cellule par la mise en jeu, le moment venu des hydrolases chargées de la vidange automatique.

En langage moléculaire encore, nous aborderons :

- les mutations, délétions et crossing-over dans le cas des hémoglobinoses ou des enzymopénies congénitales,
- des accoutumances microbiennes et des problèmes de l'antibiorésistance,
- de mode d'action des virus aussi bien que celui des hormones,
- et nous donnerons une interprétation biochimique de la mémoire qu'il s'agisse de la mémoire des cellules cérébrales ou celle plus étonnante peut-être encore des lymphocytes.

Mais l'intérêt véritable de la biochimie moléculaire se situe, à mon humble avis, sur un plan plus fondamental encore.

Il consiste en ceci, que, à son niveau, c'est-à-dire au niveau des macromolécules, il n'existe plus de disciplines ou tout au moins de techniques distinctes.

Peu importe que le point de départ ait été une ultracentrifugation, une observation au microscope électronique, un spectre de diffraction aux rayons X ou un examen isotopique, ce qui compte, c'est d'aboutir à la structure dans l'espace, au comportement spatial de la macromolécule qui se trouve disposée de façon telle que, à son niveau, ces deux notions qui paraissaient jusqu'alors si différentes l'une de l'autre, structure et fonction, ne font plus qu'un.

Connaissant la structure d'une macromolécule nous allons pouvoir en déduire immédiatement ses points d'impact sur les humeurs, les tissus, la matière vivante, ses aptitudes enzymatiques, ou immunologiques.

Mais en sens inverse, et le cas est plus saisissant encore, il est possible de passer de la fonction à la structure. Et le plus bel exemple que nous puissions en donner est évidemment celui de l'ARN messager, molécule imagée, de toutes pièces par JACOB et MONOD en fonction des propriétés physiologiques dont elle devait être porteur, et qui, plus tard, a bien été découverte telle qu'elle avait été décrite avant d'avoir été vue.

Ce nouveau mode de pensée, ce nouvel instrument d'investigation que pourra-t-il donner en présence de toute une série de phénomènes physiopathologiques qui sont le lot de la médecine de tous les jours c'est là un problème que bien des chercheurs s'efforcent dès aujourd'hui de résoudre et dont la réponse ne pourra être mésestimée.

Vu, le 3 Avril 1968
Le Président de Thèse
G. DASTUGUE

Vu, le 4 Avril 1968
Le Doyen
G. MEYNIEL

Vu et Permis d'Imprimer
N° M 15/68
Le 25 Juin 1968
Le Doyen
G. MEYNIEL

REFERENCES Ière PARTIE

- ABRAMS R. - Nucleic acid metabolism and biosynthesis.
App. Rev. of Bioch. - 1961, 30, 165.
- ABRAMS R., EDMONDS M., BISWAS B.B. - Polynucleotides synthesis from nucleosides triphosphates with enzyme calf thymus nucleic acides ribonucleiques et polyphosphates, structure, synthese and fractions.
Coll. Intern. CNRS. - 1961, 323.
- ADAMS J. M., CAPECCI M.R. - N-formylmethionyl-S-RNA : l'initiateur de la synthèse protéique.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 1966, 55.
- AGRANOFF B., DAVIS R.E., BRINK J.J. -
Proc. Nat. Acad. Sc. - U.S.A. - 1965, 54, 788.
- ALFERT M. - Quantitative cytochemical studies on patterns of nuclear growth.
In : Fine structure of cells, 1955, Noordhoff, Groningen 157.
- ALLFREY V.G., FAULKNER R., MIRSKY A.E. - Acetylation and methylation of histone and their possible role in the regulation of R.N.A. synthesis.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash), 1964, 51, 786.
- ALTMANN (1899)
In : LOT F.
A.D.N. , A.R.N. et synthèse des protéines.
La revue du praticien, 1966, 16, 2393.
- ANFENSEN C.B. - The molecular basis of evolution N.Y./London.
John Wiley and Sons ed., 1960.

- ARMSTRONG R.L., BOEZI J.A. - Studies of escherichia Coli, ribonucleic acid and desoxyribonucleic acid complex. Biochim. Biophys. Acta - 1965, 103, 60.
- ARONSON I., SPEIGELMAN S. - Protein and ribonucleic acid synthesis in a chloramphenicol inhibited system. Biochim. Biophys. Acta - 1961, 53, 70 et 1961, 53, 84.
- AVERY O.T., Mac LEOD C.M., Mac CARTY M. - Recherche sur la nature chimique de la substance provoquant le changement de type des pneumocoques. Induction d'une transformation par une fraction acide desoxyribonucléique isolée de pneumocoque type III. J. Exp. Med. - 1944; 79, 137.
- BABICH F.R., JACOBSON A.L., BUBASH S., JACOBSON A. - Transfer of a reponse to naïve rats by injection of ribonucleic acids extrated from trained rats. Science, 1965, 149, 656.
- BARON P. - Les enzymes polymérisants des acides nucléiques. Biologie Médicale, 1966, 55, 117.
- BEADLE G.W., TATUM E.L. - Genetic control of biochemical reaction in neurospora. Proc. Nat. Acad. Sc. U.S. - 1941, 27, 499.
- BENJAMIN W., LEVANDER P.A., GELLHORN A., DEBELLIS R.- An RNA - Histone complex in mammalian cells : the isolation and characterization of a new RNA species. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) - 1966, 55, 858.
- BENNETT E.L., CALVIN M. - Neurosc. Res. Prog. Bull. - 1964, 2 (n° 4) p. 3.
- BERG T.L., GOUTIER R. - La synthèse de l'acide ribonucléique dans le foie de rat en régénération et sa sensibilité à l'irradiation corporelle totale. Arch. Int. de Physiol. Biochim. - 1966, 74, 909.
- BETKE K., KLEIHAUER E. - Fetaler und beeinflender blutfarbstoff in érythrocyten und erythroblasten von menschilchen feten und neugebotenen. Bult., 1958, 4, 221.

- BISHOP J., FAVELUKES G., SCHWEET R., RUSSELL E. - Control of specificity in hemoglobin synthesis.
Nature, 1961, 191, 1365.
- BONNER J., HUANG R.C., GILDEN R.V. - Chromosomally directed protein synthesis.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 1963, 50, 893.
- BORSOOK H., KEIGHLEY G. - The continuing metabolism of nitrogen in animal.
Proc. Roy. Soc. London, 1953, 118, 488.
- BRACHET (1935)
In : GAJDOS A.
Le rôle des acides nucléiques dans le mécanisme de la biosynthèse des protéines.
La Presse Médicale - 1964, 72 (36), 2101.
- BRACHET J., DENIS H., DE VITRY F. - The effect of Actinomycin D and Puromycin on Morphogenesis in amphibian eggs and *Acetabularia mediterranea*.
Develop. Biol. - 1964, 9, 398.
- BRENNER S., JACOB F., MESELSON M. - An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes protein synthesis.
Nature (Londres) - 1961, 190, 576.
- BURI J.F. - Quelques données nouvelles sur la biosynthèse des protéines.
La Revue du Praticien - 1967, 17, 4163.
- CAMPBELL P.L. - The biosynthesis of proteins.
Progress. in Biophys. et Mol. Biol. - 1965, 15, 3.
- CANNELAKIS E.S. - Mechanism involved in the biosynthesis of ribonucleic acids.
Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1959, 81, 675.
- CANTONI G.L., ISHIKUBA H., RICHARDS H.H., TANAKA K. - Studies on soluble ribonucleic acid XI. A model for the base sequence of serine S-RNA.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. - 1963, 28, 123.
- CASPERSSON (1953)
in : GAJDOS A.
Le rôle des acides nucléiques dans le mécanisme de la biosynthèse des protéines.
La Presse Médicale, 1964, 72 (36), 2101.

- CAVALIERI L.F., NEMCHIN R.G. - The mode of interaction of actinomycine D with D.N.A.
Biochi. Biophys. Acta - 1964, 87, 641.
- CHANTRENNE N. - Biosynthesis of proteins.
Pergamon ed. Oxford - 1961.
- CHAPEVILLE F., LIPMANN F., Von EHRENSTEIN G., WEISBLUM B., RAY W.J., BENZER S. - On the role of soluble R.N.A. in coding of amino acids.
Proc. Nat. Acad. Sci. Wash. - 1962, 48, 1086.
- CHENG R. - Size of rapidly labelled R.N.A. in human amnion cells.
Biochi. Biophys. Acta - 1961, 53, 235.
- Cl. J. et M.W. - La Presse Médicale - 1967, 75 (27), 1381.
- COHEN E.P. - Nature, 1967, 213, 462.
- COHEN G.N. , JACOB F. -
Sur la répression de la synthèse des enzymes intervenant dans la formation du tryptophane chez E. Coli.
C.R. Acad. Sci. (Paris) - 1959, 248, 3490.
- COHEN M., KEATS A.S., KRIVOVY W. and UNGAR G. -
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
- CRICK F.H.C. - Recent excitement in the coding problem.
In : Progress in nucleic acid research, 1963, J.N. Davidson et W.E. Conn Ed.
Acad. Press N.Y. London.
- CRICK F.H.C., BARNETT L., BRENNER S., WATTS-TOBIN R. -
General nature of the genetic code for protein.
Nature (London), 1961, 192, 1227.
- DAUTREVAUX M. - La traduction de l'information génétique dans la biosynthèse des protéines A.
Bulletin de la Société de Pharmacie de Lille - 1966, n° 1, 21.
- DENNY P.C., TYLER A. - Activation of protein biosynthesis in non nucleate fragments of sea urchin eggs.
Biochi. Biophys. Res. Comm. - 1964, 14, 245.
- DINGMAN W., SPORN M.B. -
Journ. Psychiat. Res. EPCE , 7, : I

- DOTY P. - The relation of the interaction of polynucleotids to the secondary structure of nucleic acids 1962.
Cambridge University Press London.
- DREYFUS J.C., SCHAPIRA G. - Les mécanismes de la biosynthèse des protéines.
Path. Biol. - 1965, 13, 395.

REFERENCES 2ème PARTIE

- DUBOST M., GANTER P., MANCY D., MARAL R., NINET L., PRUD'HOMME J. - La rufocromomycine (5278 R.P.) antibiotique cytotatique.
C.R. Acad. Sc. Paris, 1965, 261, 4, 911-4, 913.
- EAGLE H., PIEZ K.A., LEVY M. - The intracellular amino-acid concentrations required for protein synthesis in cultured humans cells.
J. Biol. Chem., 1961, 236, 2039.
- EDINGTON G.M., LEHMANN H. - Expression of the sickle cell gene in Africa.
Brit. Med. H., 1965, 11, 1328.
- FESSENDEN J.M., MOLDAVE K. - Studies on amino-acyl transfer from soluble R.N.A. to rat liver ribonucléo-protein; effect of soluble and microsomal extract.
Biochemistry, 1962, 1, 485.

- FEULGEN R., ROSSENBERG H. - Z. Physiol. Chem., 1924, 135, 203.
- FISHMAN M. - J. Exp. Med., 1961, 114, 837.
- FJERDINGSTAD E.J., NISSEN T., ROIGAARD-PETERSEN H.H.
Effect of R.N.A. acid extrated from the brain of trained animals on learning in rats.
Scand. J. Psychol., 1965, 6, 1.
- FLEXNER J.B., FLEXNER L.B., STELLAR E. - Science, 1963, 141, 57.
- FLEISSNER E., BOREK E. - A new enzyme of R.N.A. synthesis R.N.A. methylase.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 1962, 48, 1199.
- FLEXNER J.B., FLEXNER L.B. and STELLAR E. - Science, 1963, 141, 57.
- FRAENKEL-CONRAT H. - The genetic code of a virus.
Sci. Amer., 1964, 211, 47.
- GAJDOS A. - Actinomycin D : inhibition de la synthèse protéinique indépendamment de l'inhibition de l'ARN messenger.
La Presse Médicale, 1966, 74, 697.
- GAJDOS A. - Prednisolone et synthèse de l'ADN et ARN par les lymphocytes humains.
La Presse Médicale, 1967, 75, 730.
- GAJDOS A. - Rôle des acides nucléiques dans le mécanisme de biosynthèse des protéines (II).
La Presse Médicale, 1964, 72 (37), 2137.
- GAJDOS A. - Rôle des acides nucléiques dans le mécanisme de biosynthèse des protéines (I).
La Presse Médicale, 1964, 72, (36), 2101.
- GAJDOS A. - Facteur stimulant la synthèse de l'ADN et la mitose lymphocytaire dans le milieu de culture des leucocytes.
La Presse Médicale, 1966, 74, 1222.
- GAJDOS A. - Inhibition de l'effet de la vitamine D par l'actinomycine D.
La Presse Médicale, 1965, 73, 3159.

- GALIBERT F., LARSEN Ch., LELONG J.C., BOIRON M. - Recherches sur un acide ribonucléique ribosomique de faible poids moléculaire.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1966, 48, 21.
- GAMOW G. - Nature, 1954, 173, 318.
- GIBSON I., SONNEBORN T.M. - Is the metagon an m-RNA in *Paramecium* and a virus in *Didinium* ?
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1964, 52, 869.
- GIERER A. - Function of aggregated reticulocyte ribosome in protein synthesis.
J. Molec. Biol., 1963, 6, 148.
- GOLBERG I.H. et AL. - Actinomycin inhibition of RNA synthesis directed by DNA.
Fed. Proc. 1964, 23, 958.
- GIRARD M., PENMAN S., DARNELL J.E. - The effect of Actinomycin on ribosome formation in *Hela* cells.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash), 1964, 51, 205.
- GREZE G. - Thèse Doct. Médecine, Clermont-Ferrand, 1967.
- GROS F. - Aspects récents du problème de la biosynthèse des protéines.
Exposés annuels de Biochimie Médicale, Masson édit. Paris, 1961, XXIII, 231.
- GROS F., DUBERT J.B., TISSIERES A., BOURGEOIS S., MICHELSON M., SOFFER R., LEGAULT L. - Regulation of metabolic breakdown and synthesis of messenger RNA in bacteria.
Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol., 1963, 28, 299.
- GROS F., HIATT G., GILBERT W., KURLAND C.G., RISE-BROUGH R.W., WATSON J.D. - Unstable ribonucléic acid revealed by pulse labelling of *Escherichia coli*,
Nature (Lond.), 1961, 190, 581.
- GROS F., NAONO S. - Bacterial synthesis of modified enzymes in the presence of a pyrimidine analogue.
In : *Protein Biosynthesis*, 1961, Academic Press, New-York.
- GROS F., NAONO S., HAYES D., WATSON J.D. - Etude du rôle de l'ARN dans le transfert de l'information génétique.
In : *Acides ribonucléiques and polyphosphate* CNRS, Paris, edit. 1962.

- GROSS P.R., COUSINEAU G.H. - Effects of actinomycin D on macromolecule synthesis and early development in sea urchin eggs.
Biochem. Biophys. Res. Comm., 1963, 10, 321.
- GROUCHY J. de - Les acides nucléiques et l'information génétique. Sciences fondamentales.
La Revue du Praticien, 1965, 15, 5.
- GROUCHY J. de - Le Message Héréditaire, 1965, Edition Gauthier Villars.
- GROUCHY J. de - Le cistron.
Rev. Franc. Clin. Biol., 1959, 4, 830.
- GRUNBERG-MANAGO M. - Mode d'action de la polynucléotide-Phosphorylase.
In : acides ribonucléiques et polyphosphates, 1962, CNRS ed. Paris.
- GRUNBERG-MANAGO M. - Enzymatic synthesis of nucleic acids.
Ann. Rev. of Bioch., 1962, 31, 301.
- HALPERN B. - Le lymphocyte expliqué au grand public.
Semaine des Hôpitaux - Informations - n° 32, suppl. à la "Semaine des Hôpitaux", 1967, 48, 5.
- HARDESTY B., HUTTON J.J., ARLINGHAUS R., SCHWEET R. - Polyribosome formation and hemoglobin synthesis.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 1963, 50, 1078.
- HARRIS H. - Function of the short liver RNA in the cells nucleus
Nature, 1964, 201, 863.
- HARRIS H. - Breakdown of nuclear RNA in the presence of Actinomycine D.
Nature, 1964, 202, 1301.
- HARRISON H. - Pediatrics, 1961, 28, (4), 531-544.
- HATT H. - A rapidly labeled RNA in rat liver nucleic.
J. Molec. Biol., 1962, 5, 217.
- HAYASHI M. - A DNA-RNA complex as an intermediate of in vitro genetic transcription.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 1965, 54, 1736.
- HERSHEY A.D., BURGI E., DAVERN C.I. - Preparative density gradient centrifugation of molecules halves of Lambda D.N.A.
Biochim. Biophys. Res. Commun. 1965, 18, 675.

- HERSHEY A.D., CHASE M. - J. Gen. Physiol., 1952, 36, 39.
- HERSHEY J.W.B., MOURO R.E. - A competitive inhibitor of the G.T.P. reaction in protein synthesis.
J. Molec. Biol., 1966, 18, 68.
- HOAGLAND M.D. - An enzymatic mechanism for aminoacid activation in animal tissues.
Biochim. Biophys. Acta., 1955, 16, 288.
- HOSOKAWA K., FUJIMURA R., NOMURA M. - Reconstitution of functionally active ribosomes from inactive particles and proteins.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 1966, 55, 198.
- HOTCHKISS R.D. - In : Chargaff E. et Davidson J.N. - The nucleic acids, II, p. 435, Academic Press N.Y. 1955.
- HUANG R.C., BONNER J. - Histone bound R.N.A., a component of native nucleohistone.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash), 1964, 54, 960-067.
- HUANT E. - Mémoire moléculaire, inscription et restitution d'une information électrique au niveau d'une structure moléculaire d'ADN.
Thérapie, 1966, 21, 1043.
- HURVITZ J., AUGUST J.T. - The rôle of DNA in RNA synthesis.
Progr. Nucl. Acid. Res., U.S.A. 1963, 1, 59.
- HYDEN H. - In : Biochemistry of the Central Nervous System, 4ème Congrès International de Biochimie, Pergamon, London, 4, 64.
- HYDEN H. and EGYHAZY - Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 1962, 48, 1366, 1964, 52, 1030.
- INGRAM V. ML - Gene evolution and the hemoglobins.
Nature, 1961, 189, 704.
- ISUGITA A., FRAENKEL-CONRAT H. - Contribution from TMV studies to the problem of genetic information transfer and coding.
In : molecular genetics ; J.H. Taylor edition, Academic Press; New-York, London.
- JACOB F., MONOD J. - Gènes de structure et gènes de régulation dans la biosynthèse des protéines.
C.R. Acad. Sci., 1959, 249, I, 282.

- JACOB F., MONOD J. - Genetic regulatory mechanism in the synthesis of proteins?
J. Mol. Biol., 1961, 3, 318.
- JACOB F., MONOD J. - Regulation of gene activity.
Cold spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1961, 26, 193.
- JEANTEUR Ph. - La transcription du code génétique.
Path. Biol., 1967, 15, 293.
- JONES O.W., NIRENBERG M.W. - Qualitative survey of RNA code-words.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1962, 48, 2115.
- KATZ J.J. and HALSTEAD W.C. - Comp. Psychol. Monogr., 1950, 20, 1.
- KHORANA H.G. - Chemical and enzymatic synthesis of polynucleotides ,
in : The nucleic Acids, 1960, T III, 105-146, A.P.
- KIDSON C. - Nature, 1967, 213, 779.
- KONRAD M.W., STENT G.S. - Transfer distribution of the D.N.A. of T 4 phage over its progeny.
Z. Vererbungsl, 1965, 96, 66.
- KORNBERG A. - Enzymatic synthesis of desoxyribonucleic acid.
Proc. Intern. Symps. Enzym. Chemistry 1958; Pergamon Press, Londres.
- KORNBERG A. - Enzymatic synthesis of DNA.
 1961, John Wiley ed. New-York.
- KRUH J. - Contrôle génétique de la biosynthèse des protéines.
Path. Biol., 1965, 13, 403.
- KRUH J. - Composition des bases des RNA de réticulocytes de lapin.
Biochi. Biophy. Acta. 1966, 129, 631.
- KRUH J. - Biosynthèse acellulaire de l'hémoglobine et ARN messager.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1966, 48, 1077.
- KRUH J., BORSOOK H. - Hemoglobin synthesis in rabbits reticulocytes in vitro.
J. Biol. Chem. 1956, 220, 905.

- KRUH J., DREYFUS J.C., SHAPIRA G. - Activation de la synthèse acellulaire de l'hémoglobine par le R.N.A.
Biochem. Biophys. Acta., 1965, 91, 494.
- KRUH J., SHAPIRA G., LAREAU J., DREYFUS J.C. - Action de la fraction d'ARN de réticulocytes obtenue par centrifugation en gradient de saccharose.
Biochim. Biophys. Acta. 1964, 87, 669.
- KRUH J., ROSA J., DREYFUS J.C., SHAPIRA G. - Synthèse de l'hémoglobine par les systèmes acellulaires de réticulocytes.
Bioch. Biophys. Acta., 1961, 49, 509 et 1962, 55, 690.
- KRUH J., SHAPIRA G., LAREAU J., DREYFUS J.C. - Activation de la synthèse acellulaire de l'hémoglobine par le RNA. II - Action de fractions d'acide ribonucléique de réticulocytes obtenues par centrifugation en gradient de saccharose.
Biochem. Biophys. Acta., 1964, 87, 669.
- KUBO S., TOMARU K., NITTA T. - Chromatography of tobacco mosaic virus its constituents and nucleic acids extracted from infected tobacco leaf tissues.
Virology, 1965, 26, 406.
- LABADIE P. - La synthèse des protéines.
La Revue du Praticien, 19-66, 15, 4485.
- LABIE D. - Protéines foetales et protéines du fœtus.
Rev. franc. Etudes Clin. Biol., 1965, X, 1020-1030.
- LEDER NIRENBERG M. - RNA codewords and protein synthesis - II nucleotide sequence of a valine RNA codewards.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 1964, 52, 420.
- LENGYEL P. - Problems in protein biosynthesis. Macromolecular Metabolism Little.
Brown ed. 1966.
- LIAU M.C., HNILICA L.S., HURLBERT R.B. - Regulation of R.N.A. synthesis in isolated nucleole by histones and nuclear Proteins.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 1965, 53, 626.

- LIEBERMAN, ABRAMS R., OVE P. - Changes in the metabolism of RNA precedings the synthesis of DNA in mammalian cell cultured from the animal.
J. Biol. Chem., 1963, 238, 2141.
- LOTTFIELD R.B. - In vivo and in vitro incorporation of ^{14}C leucine into ferritin.
Fes. Proc., 1954, 13, 1525.
- LOT F. - ADN, ARN et synthèse des protéines.
La Revue du Praticien, 1966, 16, 2393.
- Mc CONNEL J.V. - Journ. Neuropsychiat., 1962 (3 suppl. 1) 5 : 42.
- MALANGEAU P. - Aspect biochimique de l'hérédité.
Les Cahiers Albert Le Grand, 1965, 75, 7.
- MESELSON M., STAHL F.W. - Replication of D.N.A. in E. Coli
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 1958, 44, 671.
- MIESCHER (1869) - In : Lot F A.D.N. et A.R.N. et synthèse des protéines.
La Revue du Praticien, 1966, 16, 2393.
- MONOD J., WYMAN J., CHANGEUX J.P. - On the nature of allosteric transition a plausible Model.
J. Mol. Biol., 1965, 12, 88.
- MONOD J. - Biosynthèse enzymatique.
Colloq. Ges. Physiol. Chem., 1959, n° 10, 120.
- MONOD J. - Biosynthesis of an enzyme-information, induction, repression.
Angew. Chem., 1959, 71, 685.
- NATHANS D. - Puromycin inhibition of protein synthesis. Incorporation of puromycine into peptides chains.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash), 1964, 51, 565.
- NIRENBERG M. - Sciences, 1963, 142, 1070.
- NIRENBERG M.W., MATTHAEI J.H. - The dependance of all free protein synthesis in E. Coli upon naturally occuring or synthetic polyribonucleotides.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 1961, 47, 1588.
- NIU M.C. - Glucose-6-phosphatase : reexamination of the RNA induced activity in Mouse ascite tumor cells.
Science, 1965, 148, 513.

- PADIEU P. - Le problème de la biogénèse des protéines musculaires.
Path. Biol., 1965, 13, 417.
- PERUTZ M.F. - Protein and nucleic acids. Elsevier Publ. Amsterdam, Londres, New-York, 1962.
- PETERS T., ANFENSEN C.B. - Production of radioactive serum albumin by liver slices.
J. Biol. Chem., 1950, 182, 171.
- PRESCOTT D.M., BENDER M.A. - Synthesis and behaviour of nuclear proteins during the cell life cycle.
J. Cell. Comp. Physiol. 1963, 62, 175.
- SAGER R., RYAN F.J. - Cell Heredity.
J. Wiley and Sons ed. New-York/London, 1961.
- SCHAEFFER J., FAVELUKES G., SCHWEET R. - Stimulation of aminoacid incorporation in an E. Coli cell free system by reticulocyte R.N.A..
Biochem. Biophys. Acta., 1964, 80, 247.
- SCHONHEIMER R. - The dynamic state of body constituents.
1942, Cambridge, Harvard Univ. Press.
- SCHRAMM G., GIERER A. - Nature, 1956, 177, 702.
- SCHWEET R., BISHOP J. - Protein synthesis in relation to gene action
In : Molecular Genetics (Part I) J. Herbert Taylor ed.
Acad. Press. N.Y. London.
- SHUTSUNG LIAO - In : Suppl. Sem. Hôp., n° 25, 28 mai 1967.
- SIBATANI A. - Genetic transcription of DNA dependent RNA synthesis.
Progress in Biophys. et Mol. Biol., 1966, 16, 17.
- SLAPIKOFF S., FESSENDEN S.H., MOLDAVE K. - Enzymatic incorporation of aminoacid from aminoacyl R.N.A. into ribosomal protein.
J. Biol. Chem., 1963, 238, 3670.
- SMITH E.L. - Nucleotide base coding and aminoacid replacements in protein.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash) 1962, 48, 471.

- SPENCER M., FULLER W., WILKINS M.H.F., BROWN G.L. -
Determination of the helical configuration of R.N.A. molecules by X rays diffraction study of cristallin amino-acid transfer R.N.A.
Nature, 1962, 194, 1014.
- STENT G.S. - The operon on its third anniversary. Modulation of transfer R.N.A. species can provide a workable model of an operator-less operon.
Science, 1964, 144, 816.
- SUZUKI H., HAYASHI Y. - The formation of " ribosomal R?N.A. " in Escherichia Coli during recovery from magnesium starvation.
Biochem. Biophys. Acta, 1964, 87, 610.
- TAKANAMI ZUBAY - Une estimation de la taille du site de la liaison de l'ARN messenger sur les ribosomes.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash), 1964, 51, 834.
- TAVLITZKI J. - Problèmes de codage dans la specification des proteines par les acides nucléiques. Les faits et leurs interprétations.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1962, 44, 697.
- UNGAR G. - In: Protides des liquides biologiques, Bruges, Avril 1965, Elsevier, Amsterdam (à paraître).
- UNGAR G., ASCHEIM E., PSYCHOYOS and ROMANO D.V. -
Journ. Gen. Physiol., 1959, 40, 635.
- UNGAR G. and COHEN M. - Internat. J. Neuropharmacol.
(à paraître).
- UNGAR G., IRWIN L.N. - Nature, 1967, 214, p. 453.
- UNGAR G. and OCEGUERA-NAVARRO D. - Nature 1965, 207, 301.
- VENDRELY R., VENDRELY C. - Biochemistry of histones and protamines.
Protoplasmatologia, 1966, V/3 c, 1.
- VIGIER Ph. - La nouvelle Biologie (Introduction à la Biologie Moléculaire).
Le Concours Médical, 1964, 86, 42.
- VIGNERON M. - Perspectives sur la biologie des amino acides.
Annales Pharamceutiques Françaises, 1963, 21, 425.

- WAHBA A.J., BASILIO L., SPEYER J.F., LENGYEL P., MILLER R.S., OCHOA S. - Synthetic polynucleotides and the aminoacid code VI.
Proc. Nat. Acad. Sc., 1962, 48, 1683.
- WAHLSTROM L., WAHLSTROM M. - Some biochemical changes accompanying Penicillin G resistance in *Staphylococcus aureus*.
Biochem. Biophys. Acta, 1964, 87, 298.
- WATSON J.D., CRICK F.H.C. - A structure for desoxyribose nucleic acid.
Nature, 1953, 171, 737.
- WEINSTOCK I.M., LUKACS M. - Enzyme studies in muscular dystrophy V. Vitamine E. - deficiency and denervation atrophy.
Enzym. Biol. Clin. (Basel), 1965, 5, 89.
- WEISS S.B. - Biosynthesis of ribopolynucleotides.
Fed. Proc., 1962, 21, 120.
- WESTERMAN R.A. - Sciences, 1963, 140, 676.
- WHEELER J.T., KREVANS J.R. - Interaction of thalassemia and hereditary persistence of hemoglobin.
F. Clin. Research., 1961, 9, 168.
- WIKLINS M.F.H. - Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol., 1956, 21, 75.
- WILKINS M.F.H., STOKES A.R., WILSON H.R. - Nature, 1953, 171, 738.
- WITTMANN H.G. - Naturwiss, 1961, 48, 729.
- YIP L.C., SHAH R., DAY R.A. - Metabolic control of Penicillinase biosynthesis in *Bacillus Cereus*.
J. Bact., 1964, 88, 297.
- YOUNGNER J., STINEBRING W., TAUBE S. - Influence of inhibitors of protein synthesis on interferon formation in mice.
Virology, 1965, 27, 541.
- ZAMECNIK P.C. - Incorporation of radioactivity from ^{14}C into proteins of rat liver homogenates.
Ped. Proc., 1953, 12, 976.

- ZIMMERMAN E.F., HOLLER B.W., PEZASON G.D. - Azaguanine inhibition of protein synthesis II - Effects of poly (U) in *Bacillus cereus*.
Biochim. Biophys. Acta. Nucleic acids and protein synthesis, 1967, 134, 402.
- ZUBAY (1958)
in : J. de GROUCHY
Les acides nucléiques et l'information génétique.
La Revue du Praticien, 1965, 15, 5.
- ZUCKERKANDL F. - Controller-gene diseases : the operon model as applied to- β -thalassemia familial fetal hemoglobinemia and the normal switch from the production of fetal hemoglobin to that of adult hemoglobin.
J. Mol. Biol., 1964, 8, 128.
-

TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	p. 1
<u>PREMIERE PARTIE</u> : Aperçu sur nos connaissances actuelles concernant la biosynthèse des protéines ...	p. 5
Chapitre 1 : Préliminaires d'ordre biologique ...	p. 7
Chapitre 2 : Préliminaires d'ordre biochimique .	p. 15
Chapitre 3 : Schéma général de la biosynthèse protéinique	p. 25
Chapitre 4 : Les différentes sortes de R.N.A...	p. 35
Chapitre 5 : Le code génétique	p. 45
Chapitre 6 : La régulation des activités enzymatiques	p. 51
<u>DEUXIEME PARTIE</u> : Aperçu sur quelques applications physiopathologiques	p. 61
Chapitre 1 : Mutation, délétion et crossing over (interprétation chimique de quelques hémoglobinopathies)	p. 63
Chapitre 2 : Transfert des informations acquises (interprétation chimique de la mémoire)	p. 77
Chapitre 3 : Quelques éléments de thérapeutique médicamenteuse et hormonal (inter- prétation chimique de quelques mé- dications)	p. 89
<u>RESUME et CONCLUSIONS</u>	p. 107
<u>BIBLIOGRAPHIE de la PREMIERE PARTIE</u>	p. I
<u>BIBLIOGRAPHIE de la DEUXIEME PARTIE</u>	p. V
